

54

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

147. BAND

DRITTES HEFT

MIT 7 ABBILDUNGEN IM TEXT



SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1955

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie.

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für analytische Chemie“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen“ selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie“ enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

**Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.**

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann

München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag

Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440
Berlin W 35, Reichpietschauer 20
Fernsprecher 249251

Band 147

Inhaltsverzeichnis.

Heft 3

Originalabhandlungen.

Seite

Panduranga Rao, V., B. V. S. R. Murty und G. Gopala Rao , Volumetric Estimation of Uranium — Part II, with Sodium Vanadate as Reagent .	161
Suter, R., R. Delley und R. Meyer , Analysenmethoden einiger neuer Schädlingsbekämpfungsmittel. Mit 1 Textabbildung.	173
Fuchs, W., und W. Quadt , Über eine neue coulometrische Zelle. Mit 5 Textabbildungen	184
Lounamaa, K. , Die Bestimmung kleiner Mengen Thallium in Blei. Extraktion des Thallium(III)-chlorids mit Isopropyläther.	196

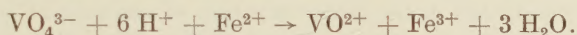
Volumetric Estimation of Uranium — Part II with Sodium Vanadate as Reagent.

By

V. PANDURANGA RAO, B. V. S. R. MURTY and G. GOPALA RAO.

(Eingegangen am 9. Mai 1955.)

LANG and GOTTlieb⁷ appear to be the earliest to use vanadate as a volumetric reagent. They estimated molybdenum(V) with a standard solution of ammonium vanadate in sulphuric acid. Vanadic acid is a fairly good oxidising agent. SOMEYA¹⁰ showed that vanadic acid reacts quantitatively with ferrous salt as follows.



FURMAN¹ carried out the titration of vanadic acid in acid solution with ferrous sulphate using diphenylamine as indicator. WILLARD and YOUNG¹⁷ employed diphenylbenzidine in the place of diphenylamine. The potentiometric titration of vanadic acid with ferrous sulphate has been studied by KELLEY and collaborators⁴, by WILLARD and FENWICK¹⁵, and by KOLTHOFF and TOMČEK⁶. These investigations show that vanadate can function as a volumetric oxidimetric reagent under suitable conditions. The planned use of vanadate as a volumetric reagent appears to have been developed by SYROKOMSKIJ and coworkers¹¹ and GOPALA RAO and collaborators², who have approached the subject independently and from different aspects.

The normal oxidation-reduction potential of the vanadate-vanadyl system in sulphuric acid has been given by SYROKOMSKIJ and STIEPIN¹³ to be + 1.006 volts (NHE). WILLARD and MANALO¹⁶ determined the formal potentials of the system in solutions of varying concentrations of sulphuric acid and showed that it rises from + 1.02 to + 1.30 volts (NHE) for sulphuric acid concentration increasing from 1F to 8F. Formal potentials differ from normal potentials in that they do not take into account the activity coefficients of the various ions in solution. The oxidation-reduction potential of the uranium IV-uranium VI couple, has been recently studied by KHLOPIN and GUREVICH⁵ who have reported a value of + 0.407 volts (NHE) for the standard potential of this system and this is in good agreement with the older data. This value is also shown to be reasonable on the basis of the entropy calculations by LATIMER⁸. TAYLOR and SMITH¹⁴ have found that the values for E_0 (NHE) ranged from + 0.3202 to + 0.3387 volts in solutions that ranged

from 0.2 to 2.0 molar hydrochloric acid. According to HEAL³ the electrode behaviour in uranium (VI)-uranium (IV) solution is not truly reversible. However, the difference between the normal oxidation potential of the uranyl-uranous ($U^{VI}-U^{IV}$) and vanadate-vanadyl (V^V-V^{IV}) systems in acid solutions differ sufficiently widely for the direct reaction between uranium IV salt and vanadate to take place.

SASTRI and GOPALA RAO⁹ have estimated uranium IV with vanadate after the addition of an excess of ferric alum, using diphenylbenzidine as indicator. In the same paper, they have also described another procedure for the estimation of uranium (IV), according to which the solution is directly titrated with sodium vanadate at 50° C. after adding 3.0 ml. of 1.0 N oxalic acid and 0.5 ml. of 0.1 percent diphenylbenzidine as inside indicator. The oxalic acid is added to catalyse the reaction between the indicator and vanadate.

Experiments have now been carried out to find an explanation for the difficulty experienced in the direct titration of uranium IV with sodium vanadate at the room temperature using diphenylbenzidine as indicator. The procedure recommended by SASTRI and GOPALA RAO⁹ would lead us to think that either: 1. uranium (IV)-vanadate reaction is slow at the room temperature (25—30° C.) or 2. the diphenylbenzidine-vanadate reaction is slow, even when catalysed by oxalic acid or 3. both the reactions (1) and (2) are slow or 4. the reaction between the oxidised indicator and the uranous salt is slow at the room temperature. In case of possibility (1) the indicator would be oxidised prematurely and consequently the blue colour would appear before all the uranium (IV) salt is oxidised. In case of possibility (2) the blue colour of the oxidised indicator would not appear until an excess of vanadate is added over and above the required titre. If both the reactions (1) and (2) are slow, the titration becomes impossible. In case of possibility (4), namely, if the reaction between the oxidised indicator and uranium (IV) is slow, although the titration is possible premature end points are obtained. If both the reactions (2) and (4) are slow the indicator action would be sluggish making the titration almost impossible, although the main reaction namely that between uranium (IV) and vanadate is fast. From this it is clear that it is not merely the speed of the uranium (IV)-vanadate reaction that determines the success or otherwise of the titration but the speed of the reversible oxidation and reduction of the indicator is also of considerable importance.

Experimental.

Sodium vanadate solution. A 0.05 N sodium vanadate solution is prepared by dissolving 5.35 g. of ammonium vanadate in water and boiling with a slight excess of sodium carbonate until free from ammonia. After cooling the solution is made up to a litre. The solution prepared in

this way keeps its titre for several months. It is standardised against a standard solution of MOHRS salt.

Uranyl acetate. 10.6 gm. of uranyl acetate (A. R. MALLINKRODT) are dissolved in 1.0 N sulphuric acid solution and diluted to a litre. This gives an approximately 0.05 N solution of the uranyl acetate. The strength of the solution is determined by the method of KOLTHOFF and LINGANE.

Diphenylbenzidine solution. 0.1 gm. of the substance is dissolved in 100 ml. of conc. sulphuric acid of analytical reagent grade (free from traces of nitrate).

The sulphuric acid and phosphoric acid employed in this investigation are also of the analytical reagent grade and proved to be free from reducing substances.

The following experiments have been carried out to study the behaviour of the reaction between the diphenylbenzidine indicator and the vanadate, in the presence of substances that are likely to be present during the titration of uranium (IV) with sodium vanadate under the conditions prescribed by SASTRI and GOPALA RAO⁹. Such substances are uranium (VI) salt, vanadium V-, vanadium IV-salt and oxalic acid.

To 50 ml. of 1.0 N sulphuric acid containing 0.5 ml. of 0.1 per cent diphenylbenzidine, 0.05 ml. of 0.05 N sodium vanadate is added in the presence of various addenda at the room temperature. The time taken for the appearance of the blue colour of the oxidised form of the indicator is noted in each case.

Table I. *Effect of vanadyl salt and oxalic acid on the reaction between the indicator (DB) and vanadate in presence of varying concentrations of uranium (VI) salt.*

Volume of 0.05 N uranium VI salt in ml.	Time taken for the appearance of the blue colour					
	Blank	Volume (in ml.) 0.05 N vanadyl salt			Volume (in ml.) 1.0 M oxalic acid	
		0.5	1.0	5.0	0.2	1.0
Nil	Blue colour in 90 secs., slowly deepens.	Grey colour only in 180 secs., slowly deepens.			Light-blue colour in 5 secs., deepens in 10 secs.	
		Grey colour in 180 secs., slowly deepens.	Grey colour in 180secs., slowly deepens.		Blue colour instanta- neously, deepens in less than 5 seconds.	
2.5	Light-grey colour only in 90 secs., does not blue even in 180 secs.	Grey colour in 180 seconds, does not deepen even in 5 minutes.			”	”
5.0	”	”			”	”
10.0	”	”			”	”

The above results show that: 1. uranium (VI) and vanadyl salts have a retarding effect on the reaction between the indicator (DB) and the vanadate, 2. oxalic acid greatly hastens the reaction, 3. oxalic acid counteracts the retarding action of the uranium (VI) salt and 4. the retardation by vanadium (IV) salt is more pronounced than that of the uranium (VI) salt.

In spite of the marked catalytic action of oxalic acid, the titration of uranium (IV) with vanadate is not possible at the room temperature even in the presence of oxalic acid as it has been shown by SASTRI and GOPALA RAO⁹. Hence, further experiments have been made.

To 50 ml. of 1.0 N sulphuric acid solution containing 0.5 ml. of 0.1 per cent diphenylbenzidine solution and varying amounts of uranium (VI) salt, different addenda, singly and in mixtures, are added as per Table 2. Then 0.05 ml. of 0.05 N sodium vanadate is added and the time taken for the appearance of the blue colour is noted.

Table 2. *Effect of different addenda on the reaction between diphenylbenzidine and vanadate at the room temperature.*

D. B. indicator plus		Time taken for the appearance of the blue colour in secs.	
Volume of 0.05 N uranium VI salt solution in ml.	Volume of 0.05 N vanadyl salt solution in ml.	Volume in ml. of oxalic acid	
		0.2	1.0
Nil	5.0	Blue colour in 5 secs., deepens in less than 20 secs.	Blue colour in less than 5 secs., deepens in 10 secs.
2.5	5.0	"	"
5.0	5.0	"	"
10.0	5.0	"	"

The above results show that: 1. oxalic acid counteracts to some extent the retarding action of vanadium (IV) salt, 2. even in the presence of oxalic acid the retarding action of a mixture of uranium (VI) and vanadium (IV) is still pronounced enough to impair the satisfactory working of the indicator. It is in this way that we can explain why SASTRI and GOPALA RAO⁹ were unable to carry out the titration of uranium (IV) with vanadate at the room temperature. Further experiments made by us have shown that: 1. the uncatalysed reaction between the indicator (DB) and vanadate is somewhat hastened by raising the temperature (at 28° C. the blue colour of the oxidised form of the indicator does not appear even in 180 seconds, whereas it takes 60 seconds at 50° C.). More over, when oxalic acid is used as a catalyst a deep blue colour appears in less than 3 to 2, seconds at 50° C., and in 10 seconds at 28° C. Thus it appears that the combination of a higher temperature and oxalic acid facilitates the rapid oxidation of the indicator even when the vanadyl salt is present. Now it becomes

clear why SASTRI and GOPALA RAO have prescribed the combined use of oxalic acid and higher temperature for the direct titration of uranium salt with vanadate.

As the use of high temperatures are not very desirable in the titration of uranium (IV) salt, we have made experiments to ascertain if the titration can be carried out at the room temperature. As a result of such experiments, we have found that the use of a mixture of oxalic acid and phosphoric acid leads to the rapid development of the colour even at the room temperature. This is shown by the results in Table 3 (p. 166).

To 50 ml. of 1.0 N sulphuric acid containing uranium VI salt and 0.5 ml. of 0.1 per cent diphenylbenzidine solution, different addenda, singly and in mixtures are added as per Table 3. Then 0.05 ml. of 0.05 N sodium vanadate is added and the time taken for the appearance of the blue colour noted.

From the results given in Table 3, it is seen that: 1. the uranyl and vanadyl salts exert a retarding action on the reaction between the vanadate and diphenylbenzidine, 2. phosphoric acid and oxalic acid individually catalyse the reaction, 3. the catalytic action of oxalic acid is more pronounced than that of the phosphoric acid, 4. the catalytic action of these two substances individually is not so great as to overcome the retarding action of the uranyl and vanadyl salts and 5. a mixture of oxalic acid and phosphoric acid in sufficient concentration catalyses the reaction between the indicator (DB) and vanadate so greatly that the retarding action of the uranyl and vanadyl salts is more than counteracted and the oxidation of diphenylbenzidine by vanadate is made to proceed almost instantaneously.

These results indicate that it should be possible to titrate the uranium (IV) salt with sodium vanadate using diphenylbenzidine as indicator in presence of suitable concentration of a mixture of phosphoric acid and oxalic acid, provided the reaction between the oxidised form of the indicator and uranium (IV) salt is rapid. In order to ascertain this fact the following experiments are carried out.

*Reaction between the oxidised form of diphenylbenzidine
and uranium (IV) salt.*

From several experiments we have found that the reaction between the oxidised form of diphenylbenzidine and uranium IV is slow at the room temperature even in the presence of phosphoric acid or oxalic acid or their mixture. However, we find that when traces of vanadate are added, the blue colour is discharged rapidly. The reactions involved are represented by the following scheme.

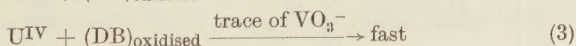
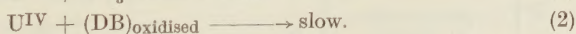
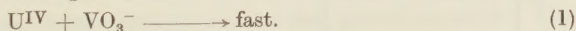


Table 3.

Effect of oxalic acid, phosphoric acid and a mixture of the two substances on the reaction between diphenylbenzidine and sodium vanadate.

Time taken for the appearance of the blue colour		Volume (in ml.) of			
Volume of 0.05 N uranium VI solution in ml.	Volume of 0.05 N vanadyl solution in ml.	80% syrupy phosphoric acid		1.0 M oxalic acid	
		0.5	2.0	0.2	1.0
					X ml. of 80% phosphoric acid + Y ml. of 1.0 M oxalic acid
		0.5	2.0	0.2	X = 2.0 Y = 0.2 X = 0.5 Y = 1.0 X = 2.0 Y = 1.0
Nil	Nil	Light-blue colour in 30 secs., deepens in 45 secs.	Light-blue colour in 10 secs., deepens in 30 secs.	Light-blue colour in 5 secs., deepens in 10 secs.	Blue colour in-stantaneously, deepens in 3 seconds.
5.0	Nil	Light-grey colour in 30 secs., deepens slowly.	Light-grey colour in 15 seconds, deepens slowly.	Deep-blue colour in 10 seconds.	Deep-blue colour in 7-8 secs. Blue colour instantaneously, deepens in 3 seconds.
Nil	5.0	Light-grey colour in 90 seconds, deepens in 180 seconds.	Light-grey colour in 75 seconds, deepens in 120 seconds.	Blue colour in 5 seconds, deepens in less than 20 seconds.	Blue colour in less than 7-8 secs.
2.5	5.0	Grey colour in about 90 secs., deepens slowly.	Grey colour in about 80 secs., deepens slowly.	"	"
10.0	5.0	"	"	"	"

We believe that the reaction (1) induces the reaction (2). This induced reaction occurs even in the presence of oxalic acid, phosphoric acid, vanadyl salt and uranyl salt. Thus it is seen that although reaction (2) is intrinsically slow, it is actually rapid enough in the titration system into which vanadate is continuously run down.

Volumetric titration of uranium with vanadate at the room temperature.

The results in the above section indicate that it should be possible to carry out the titration of uranium (IV) salt at the room temperature provided oxalic acid and phosphoric acid are added in sufficient concentrations. We therefore performed a number of titrations of uranium IV salt with standard vanadate using diphenylbenzidine as indicator in the presence of a mixture of oxalic acid and phosphoric acid according to the following procedure.

To 10–25 ml. of approximately 0.05 N uranium (IV) solution, 10 ml. of 10.0 N sulphuric acid, 2.0 ml. of 1.0 M oxalic acid and 5 ml. of syrupy phosphoric acid are added along with 0.5 ml. of 0.1 per cent diphenylbenzidine indicator. This mixture is diluted to 100 ml. and then titrated with standard sodium vanadate run down from a burette stirring the solution well during the titration.

The colour change of the indicator at the true end point is very sharp. Some typical results of a number of estimations are tabulated below (Table IV).

Table 4. *Estimation of uranium (IV) with sodium vanadate.*

Millimols of uranium (IV) salt					
Taken	Found	Taken	Found	Taken	Found
0.2568	0.2566	0.6420	0.6425	0.4068	0.4068
0.3852	0.3853	0.4356	0.4359	0.2984	0.2985
0.5136	0.5139	0.2712	0.2710	0.3968	0.3966

It is interesting to note that oxalic acid does not interfere in the titration of uranium (IV) salt with vanadate using diphenylbenzidine as indicator.

N-phenylanthranilic acid as indicator.

SYROKOMSKIJ and KLIMENKO¹² have reported that they have estimated uranium with ammonium vanadate using N-phenylanthranilic acid as indicator, but the experimental conditions and procedural details are not available. SYROMOSKIJ and STIEPIN¹³ have pointed out else where that for the titrations with vanadate using N-phenylanthranilic acid a high acid concentration from 4–6 N is required. But it is not clear how this indicator works in the direct titrations of uranium (IV) salt with vanadate. It has been pointed out in the previous section that the study of the existing literature on the oxidation of uranium (IV) with various oxidants, vanadate also being one of them, would make us think

that the reaction between the uranium (IV) and vanadate also might be slow at the room temperature. Further our recent work on the volumetric estimation of uranium with various oxidants using different indicators has revealed the important role played by the nature of the oxidation and reduction reactions of the indicator.

In this back ground we have studied the reaction between the vanadate and N-phenylanthranilic acid at the room temperature under different conditions.

The following experiments have been conducted to study the effect of acidity on the reaction between N-phenylanthranilic acid and vanadate in presence of varying amounts of uranyl salt.

To 50 ml. of XN sulphuric acid solution containing varying amounts of uranyl salt and one drop of 0.1 per cent (NPA)-indicator solution, 0.05, ml. of 0.05 N sodium vanadate solution is added and the time taken for the appearance of the pink colour noted (Table 5).

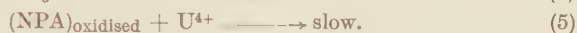
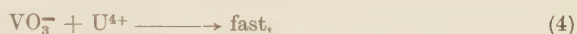
Table 5. *Effect of acidity on the reaction between vanadate and N-phenylanthranilic acid.*

Volume of 0.05 N uranium VI soln. in ml.	Time taken for the appearance of the pink colour			
	Acidity with respect to sulphuric acid			
	2 N	3 N	4 N	5 N
Nil	Light colour in 3 mins., colour deepens slowly	Light colour in 15 secs., deepens in 1 min.	Pink colour in 10 secs., deepens in 30 secs.	Pink colour instantaneously, deepens in 5 secs.
2.5	„	Light colour in 20 secs., deepens in 1 minute	Pink colour in 15 secs., deepens in 30 secs.	„
5.0	No colour even in 5 minutes	„	„	„
10.0	„	„	„	„

The results in the Table 5 show that: 1. the reaction between the indicator and vanadate is very slow at lower acidities, 2. uranyl salt has a retarding action on the reaction and 3. the colour of the oxidised indicator appears almost instantaneously even in the presence of uranyl salt provided the acid concentration is at least 5 N.

From this it is clear that at an acid concentration of 5 N with respect to sulphuric acid, the direct titration of uranium IV with sodium vanadate using N-phenylanthranilic acid as indicator, should be possible only if the oxidised form of the indicator is readily reduced by uranium IV during the titration thus making the oxidation-reduction reactions of the indicator reversible. We have already pointed out in part I of this

series that the reaction between the oxidised form of the N-phenylanthranilic acid indicator and uranium IV is slow. In this case also, it is found that the reaction is rendered very fast if only a trace of vanadate is added to a mixture of uranium IV and the oxidised N-phenylanthranilic acid [cf. U^{4+} , $Cr_2O_7^{2-}$ and oxidized NPA system, Part I of this series (S.p 90)]. By analogy, we explain this reaction also by the induction phenomenon; the slow reaction between the oxidised indicator and uranium IV is induced by the reaction between the vanadate and uranium IV. Schematically it is represented as follows:



From these facts it appears that the direct titration of the uranium IV salt with vanadate using N-phenylanthranilic acid as indicator should be possible at the room temperature provided the acid concentration is at least 5 N. So, a number of estimations of uranium (IV) have been carried out according to the following procedure and found that the results are accurate and the method is very rapid.

To 10–25 ml. of approximately 0.05 N uranium (IV) solution, 50 ml. of 10.0 N sulphuric acid and one or two drops of 0.1 per cent N-phenylanthranilic acid solution are added and then diluted to 100 ml. This mixture is then titrated with standard (0.05 N) sodium vanadate run down from a burette stirring the solution well during titration. The end point is marked by the sharp appearance of a pink-violet colour at the true end point. Some typical results of numerous estimations of uranium (IV) salt are given in Table 6.

Table 6. *Estimation of uranium (IV) with vanadate using N-phenylanthranilic acid as indicator.*

Millimoles of uranium (IV)					
Taken	Found	Taken	Found	Taken	Found
0.2658	0.2659	0.4135	0.4136	0.5173	0.5170
0.5628	0.5627	0.2068	0.2070	0.2587	0.2585
0.5316	0.5318	0.3105	0.3108	0.3881	0.3880
0.3987	0.3985				

Influence of oxalic acid on the reaction between N-phenylanthranilic acid and sodium vanadate.

In the previous section it is seen that oxalic acid catalyses the reaction between the vanadate and diphenylbenzidine. It is therefore quite likely that N-phenylanthranilic acid (or O-diphenylamine carboxylic acid) which is closely related to the diphenylamine might behave somewhat similarly. So, experiments have been devised to see the effect of oxalic acid on the reaction between the vanadate and N-phenylanthranilic acid.

To 50 ml. of N sulphuric acid solution containing varying amounts of uranyl salt and oxalic acid and one drop of 0.1 per cent *N*-phenylanthranilic acid solution, 0.05 ml. of 0.05 N sodium vanadate solution is added and the time taken for the appearance of the pink colour noted (see Table 7).

The results given in Table 7 indicate that: 1. oxalic acid has a pronounced catalytic effect on the reaction between *N*-phenylanthranilic acid and sodium vanadate, 2. the catalytic action of oxalic acid increases with the increase in the concentration of oxalic acid, 3. oxalic acid, if present in sufficient concentrations, catalyses the reaction between *N*-phenylanthranilic acid and vanadate so greatly as to produce pink colour instantaneously even in 4 N sulphuric acid solution and 4. the catalytic action of oxalic acid in 4 N sulphuric acid is so great that it counteracts the retarding action of the uranium (VI) ions on the reaction between *N*-phenylanthranilic acid and the vanadate.

Having observed that the reaction between the vanadate and *N*-phenylanthranilic acid is catalysed by oxalic acid, experiments were carried out to study the reaction between the oxidised form of *N*-phenylanthranilic acid and uranium (IV) solution in presence of oxalic acid to see whether the oxidation-reduction reactions of the indicator are reversible. Even in this case, the reaction between oxidised form of *N*-phenylanthranilic acid and uranium (IV) is observed to be slow, but it is rendered very rapid when a trace of sodium vanadate is added. This clearly shows that the slow reaction between the oxidised form of *N*-phenylanthranilic acid and uranium (IV) salt is induced by the fast reaction between the vanadate and uranium (IV) solution, even in presence of oxalic acid.

The above results lead us to believe that it would be possible to titrate uranium (IV) directly with vanadate even in 4 N sulphuric acid concentration using *N*-phenylanthranilic acid as an indicator provided oxalic acid is added in sufficient concentration. A number of estimations of uranium with sodium vanadate were carried out by us at 4 N sulphuric acid concentration in presence of oxalic acid by the following procedure. The results obtained are accurate.

Procedure. To 10–25 ml. of approximately 0.05 N uranium (IV) solution 40 ml. of 10.0 N sulphuric acid, 2.0 ml. of 1.0 M oxalic acid and one to two drops of 0.1 per

Table 8. *Estimation of uranium with sodium vanadate in presence of oxalic acid.*

Millimols of uranium			
Taken	Found	Taken	Found
0.2435	0.2433	0.2281	0.2279
0.4253	0.4256	0.3190	0.3186
0.2127	0.2126	0.4785	0.4788
0.4870	0.4872	0.2393	0.2391
0.4562	0.4564	0.4488	0.4490

cent N-phenylanthranilic acid solution are added and then diluted with water to 100 ml. The solution is then titrated with standard sodium vanadate run down from a burette stirring the solution well during titration. The end point is marked by the sharp appearance of a pink colour (Table 8, p. 171).

It is very interesting to note that oxalic acid does not interfere even at 4.0 N acid concentration in the direct titration of uranium IV with vanadate.

Summary.

1. The reaction between uranium (IV) salt and sodium vanadate in acid solution is shown to be fast enough to allow the volumetric estimation even at the room temperature ($25-30^{\circ}\text{C}.$). However, the titration is not possible with diphenylbenzidine as indicator because the indicator vanadate reaction is not fast enough. Moreover we have now shown that the indicator-vanadate reaction is also retarded by U^{VI} and V^{IV} salts that would be formed in the course the of titration.

2. We have also found that a mixture of oxalic acid and phosphoric acid in suitable concentrations catalyses the reaction between diphenylbenzidine and vanadate to such an outstanding degree that the retarding action of U^{VI} and V^{IV} salts is more than counterbalanced.

3. It is also found that the slow reaction (A) between the oxidised diphenylbenzidine and uranium (IV) is induced by the fast reaction (B) between the vanadate and uranium (IV) making the reaction between the oxidised indicator and uranium (IV) rapid. These two factors made it possible to estimate uranium (IV) with vanadate using diphenylbenzidine as indicator at the room temperature ($25-30^{\circ}\text{C}.$).

4. It has been shown that U^{IV} can be estimated with vanadate at the room temperature using diphenylbenzidine as indicator with a mixture of phosphoric acid and oxalic acid to catalyse the indicator-vanadate reaction. Oxalic acid does not interfere in this estimation. The results are accurate.

5. The reaction between N-phenylanthranilic acid and vanadate is slow at the lower acid concentrations. But if acid concentration is not lower than 5 N, the reaction becomes so rapid as to allow its use as an indicator in the vanadimetric titration of U^{IV} .

6. It has been observed that the reduction of oxidised N-phenylanthranilic acid with uranium (IV) is slow but is rendered fast by the fast reaction between vanadate and uranium (IV), by an induced mechanism. This induced reaction in conjunction with the fast reaction between N-phenylanthranilic acid and vanadate at 5 N acid concentration facilitates the oxidation-reduction reactions of N-phenylanthranilic acid in the proposed titrations.

7. Oxalic acid is shown to catalyse the reaction between N-phenylanthranilic acid and vanadate. If oxalic acid is present in suitable

concentration, the estimation of uranium (IV) with vanadate using N-phenylanthranilic acid is possible even at 4.0 N acid concentration. Oxalic acid does not interfere.

References.

- ¹ FURMAN, N. H.: Science (New York) **59**, 560 (1924). — Ind. Engng. Chem. **17**, 314 (1925); cf. Z. analyt. Chem. **71**, 75 (1927); **87**, 459 (1932). — ² GOPALA RAO, G., and al.: Current Sci. **13**, 180 (1944); **18**, 72 (1949); **18**, 169 (1949). — Proc. nat. Inst. Sci. India **12**, 217 (1946). — ³ HEAL, G.: Report MC 95, Oct. 20 (1944). — ⁴ KELLEY, G. L.: Ind. Engng. Chem. **8**, 772 (1916); **11**, 632 (1919); **13**, 939 (1921); cf. Z. analyt. Chem. **61**, 241 (1922). — ⁵ KHLOPIN, V. G., and A. M. GUREVICH: Bull. Akad. Sci. USSR **271**, 381 (1943). — ⁶ KOLTHOFF, I. M., and O. TOMČEK: Recueil. Trav. chim. Pays-Bas **43**, 447 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **88**, 213 (1932). — ⁷ LANG, R., u. S. GÖTTLIEB: Z. analyt. Chem. **104**, 1 (1936). — ⁸ LATIMER, W. M.: Oxidation reduction potentials of elements in aqueous solutions, Prentice Hall 1938. — ⁹ SASTRI, M. N., and GOPALA RAO, G.: Current. Sci. **18**, 402 (1949). — ¹⁰ SOMEYA, K.: Z. anorg. allg. Chem. **139**, 237 (1924); **152**, 391 (1926); cf. Z. analyt. Chem. **70**, 467 (1927). — ¹¹ SYROKOMSKIJ, W. S., and Coworkers: Zavodskaja Laborat **5**, 144 (1936); **7**, 1093 (1938); **9**, 818 (1940); **9**, 1077 (1940). — Ž. anal. Chim. **1944**, 83. — ¹² SYROKOMSKIJ, V. S., and JU. V. KLIMENKO: Zavodskaja Laborat **9**, 1077 (1940). — ¹³ SYROKOMSKIJ, V. S., and V. V. STIEPIN: J. Amer. chem. Soc. **58**, 928 (1936). — ¹⁴ TAYLOR, T. K., and E. R. SMITH: Report A-1788 April 15, 1944 and Report A-1792 Aug. 29, 1944. — ¹⁵ WILLARD, H. H., and F. FENWICK: J. Amer. chem. Soc. **45**, 84 (1923); cf. Z. analyt. Chem. **87**, 454 (1932). — ¹⁶ WILLARD, H. H., and G. D. MANALO: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **19**, 462 (1947). — ¹⁷ WILLARD, H. H., and P. YOUNG: Ind. Engng. Chem. **20**, 764 (1928).

Prof. G. GOPALA RAO, D. Sc., Andhra University, Naoroji Road, Visakhapatnam-2 (India).

Aus dem analytischen Laboratorium der J. R. Geigy AG, Basel.

Analysenmethoden einiger neuer Schädlingsbekämpfungsmittel.

Von

R. SUTER, R. DELLEY und R. MEYER.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 16. Mai 1955.)

I. Einleitung.

In letzter Zeit wurden von der Firma J. R. Geigy AG, Basel, einige neue Produkte zur Schädlingsbekämpfung in den Handel gebracht. Chemisch gehören diese Substanzen verschiedenen Körperklassen an, die zum Teil bisher nicht Eingang in die Praxis gefunden hatten.

1. In Weiterentwicklung der hauptsächlich von G. SCHRADER bearbeiteten Körperklasse der Phosphorsäureester¹⁰ wurden von GYSIN u. Mitarb.⁷ einige phosphorhaltige Abkömmlinge heterocyclischer Enole entwickelt. Von diesen hat der *Thiophosphorsäure-[2-isopropyl-4-methyl-pyrimidyl-(6)]-diäthylester*⁴, der die allgemeine Bezeichnung *Diazinon* führt, in jüngster Zeit sowohl als Fliegenbekämpfungsmittel in der Hygiene als auch als Mittel gegen verschiedene landwirtschaftliche Schädlinge eine ausgedehnte praktische Anwendung gefunden.

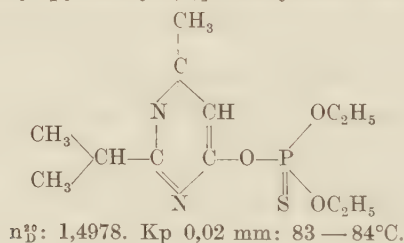
2. Unter den *Estern der 4,4'-Dichlorbenzilsäure* hat der *Äthylester* sich als sehr gut wirksame Verbindung gegen verschiedene Spinnmilbenarten erwiesen. Die von F. HÄFLIGER synthetisierte Substanz wurde von R. GASSER³ auf ihre akaricide Wirkung geprüft und nach eingehenden Feldversuchen in der Schweiz und im Ausland als selektiv wirkendes Akaricid eingeführt.

3. Von Urethanen heterocyclischer, enolisierbarer Systeme wurden einige Vertreter für Spezialzwecke einigen Schädlingsbekämpfungsmitteln der Firma Geigy (Gesarex) zugesetzt. Aus den von GYSIN, MARGOT u. SIMON⁷ hergestellten Präparaten sei hier das spezifische Blattlausmittel *Isolan*⁶ (*1-Isopropyl-3-methyl-pyrazolyl-5-dimethylcarbinat*) erwähnt. Die Substanz, die als *Primin Geigy* im Handel ist, weist eine sehr rasche und vollständige Wirkung gegenüber verschiedenen Blattlausarten auf.

II. Analyse der Wirksubstanzen.

1. Diazinon.

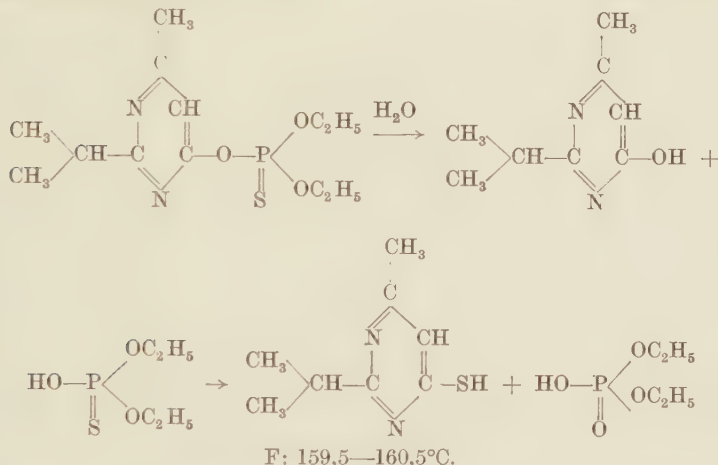
Bei der Umsetzung von Thiophosphorsäurediäthylesterchlorid mit 2-Isopropyl-4-methyl-6-oxypyrimidin entsteht der Thiophosphorsäure-[2-isopropyl-4-methyl-pyrimidyl-(6)]-diäthylester der Formel



Diese Substanz stellt in reinem Zustand ein wasserklares Öl mit dem spez. Gew. von 1,116 (20° C) dar. Das technische Produkt hat eine gelbe bis orange Farbe und ist mit einigen Prozenten Ausgangs- sowie Zersetzungsprodukten verunreinigt. Bis heute konnten nicht alle diese Verbindungen isoliert und identifiziert werden, da sie zum Teil in sehr geringen Mengen vorhanden sind. Von den wichtigsten Begleitstoffen seien erwähnt:

Di- und Triäthylester der Thiophosphorsäure und der Phosphorsäure,
 Monoäthylthiophosphorsäuredichlorid,
 Diäthylthiophosphorsäurechlorid,
 Di-[2-isopropyl-4-methyl-pyrimidyl-(6)]-thiophosphorsäureäthylester,
 Isopropylmethoxyypyrimidin,
 Isopropylmethylmercaptopyrimidin.

Letzteres entsteht vermutlich aus Diazinon infolge Umlagerung nach folgendem Schema:



Das Isopropylmethylmercaptopyrimidin findet sich in Produkten, die infolge zu langer, unsachgemäßer Lagerung Zersetzungserscheinungen zeigen.

Makromethode.

Die quantitative Untersuchung beschränkt sich auf folgende Bestimmungen:

a) *Titration der basischen Bestandteile.* Dazu gehören das Diazinon, der Di-[2-isopropyl-4-methyl-pyrimidyl-(6)]-thiophosphorsäureäthylester, das Isopropylmethoxyypyrimidin und das Isopropylmethylmercaptopyrimidin. Diese 4 Substanzen verhalten sich bei der Titration in nicht-wäßrigen Lösungsmitteln wie z. B. in Eisessig, mit Perchlorsäure in Eisessig als Titranten, als einbasische Verbindungen. Als Indicator dient α -Naphtholbenzein; der Umschlag erfolgt von Orange nach Dunkelgrün.

b) *Bestimmung des Rein-Diazinons.* Man löst eine gewogene Menge des technischen Diazinons in Äther und extrahiert diesen solange mit Wasser, bis das Waschwasser keine saure Reaktion mehr zeigt. Am Ende wird noch mit 0,05 n NaOH-Lösung gewaschen, wobei auch das Isopropylmethylmercaptopyrimidin herausgelöst wird. Der Äther wird mit Wasser gewaschen, alsdann mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und abdestilliert.

Der Rückstand wird in Eisessig gelöst, auf ein bestimmtes Volumen gestellt und ein aliquoter Teil mit Perchlorsäure titriert.

c) *Isopropylmethylmercaptopyrimidin*. Obige Waschwässer werden mit 2 ml Salzsäure (1:1) kongosauer gestellt und zweimal mit je 100 ml Äther extrahiert. Nach zweimaligem Waschen des Äthers wird dieser getrocknet und abdestilliert. Der Rückstand, der gelbe Kristalle darstellt, wird mit 0,1 n Perchlorsäure titriert.

d) *Isopropylmethyloxypyrimidin*. Die unter c) nach Entfernung des Isopropylmethylmercaptopyrimidins erhaltene kongosaure Lösung wird nun genau lackmusneutral gestellt und mit Chloroform extrahiert. Es sind hierzu mindestens 10 Extraktionen mit je 50 ml Chloroform erforderlich. Das Chloroform wird nach dem üblichen Trocknen abdestilliert und der Rückstand mit Perchlorsäure titriert.

e) *Titration der Säuren*. Diese werden in 50% igem Alkohol mit Natronlauge gegen Methylrot als Indicator titriert. Die Titration kann auch elektrometrisch erfolgen. Die Berechnung erfolgt auf das Mol. des Thiophosphorsäurediäthylesters.

f) *Mono- und Diäthylthiophosphorsäurechlorid bzw. -dichlorid*. Man wägt 5 g Diazinon in einen 250 ml-Erlenmeyer-Kolben, versetzt mit 25 ml 0,2 n alkoholischer Lauge und 20 ml 30% igem Wasserstoffperoxyd, verbindet mit einem Rückflußkühler und läßt 15 min kochen. Nach dem Abkühlen fügt man 5 ml Schwefelsäure (1:1) hinzu und extrahiert zweimal mit je 100 ml Petroläther. Der Petroläther wird noch mit schwefelsäurehaltigem dest. Wasser gewaschen und in den vereinigten sauren Lösungen das Chlor elektrometrisch mit 0,1 n Silbernitratlösung titriert.

g) *Thiophosphorsäurediäthylester*. 10 g Diazinon werden mit etwa 70 ml Äther und 30 ml Salzsäure (2:1) in einem 250 ml-Scheidetrichter 1 min lang tüchtig geschüttelt. Die saure Schicht wird in einen zweiten Scheidetrichter abgetrennt und mit 70 ml Äther versetzt. Man schüttelt $\frac{1}{2}$ min und trennt in einen dritten Scheidetrichter ab, wiederholt die Extraktion mit weiteren 70 ml Äther und verwirft nachher die wäßrig-saure Schicht. Die sich in den drei Scheidetrichtern befindenden Ätherextrakte werden nacheinander zweimal mit 30 ml Salzsäure (2:1), einmal mit 30 ml dest. Wasser, einmal mit 30 ml etwa 0,2 n Natronlauge und zweimal mit 30 ml dest. Wasser ausgeschüttelt. Nun werden die Ätherextrakte vereinigt, das Volumen wird durch Destillation auf etwa 50 ml vermindert und der Äther mit Natriumsulfat getrocknet. Man läßt 1 Std stehen, filtriert dann quantitativ in einen gewogenen 200 ml-Erlenmeyer-Kolben und destilliert den Äther sorgfältig bis auf ein Volumen von etwa 5—10 ml ab. Die Ätherreste werden unter gelindem Erwärmen abgesaugt. Nachher stellt man den Kolben während 3 min in einen Trockenschrank von 95—100° C, bläst durch einen kurzen Luftstrahl aus und wägt nach dem Erkalten zurück.

h) *Dipyrimidylthiophosphorsäureäthylester*. Diese Verbindung läßt sich papierchromatographisch und im UR-Spektrum feststellen und bestimmen.

i) Als *Hauptbegleitstoff* kommt im technischen Diazinon das als Lösungsmittel verwendete *Benzol* in Betracht. Dieses wird mittels der Apparatur von SCHECHTER u. HORNSTEIN⁹ durch Vertreiben aus Eisessig mit CO_2 oder H_2 und Auffangen in Alkohol spektralphotometrisch bestimmt.

Fertigprodukte.

Es handelt sich hierbei um Stäubemittel, Spritzmittel, emulgierbare Lösungen, Sprays, Pasten und Räucherpapiere.

Aus den Pulverprodukten wird die Wirksubstanz durch Extraktion bei Zimmertemperatur mit Äther abgetrennt. Der Ätherrückstand dient dann zur Ausführung der detaillierten Analyse. — Aus Pasten und emulgierbaren Lösungen läßt sich das Reindiazinon aus 50%igem Äthanol mit Petroläther ausschütteln. Sollten sich bei dieser Arbeitsweise sehr schwer trennbare Emulsionen bilden, so empfiehlt sich folgende Methode: 5 g der Probe werden in einem 100 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 50 ml Lösungsmittel (Petroläther mit 5 Vol-% Äther) versetzt. Nach Zugabe von 25 g feingepulvertem, wasserfreiem Natriumsulfat verrührt man den Kristallbrei mit einem am Ende plattgedrückten Glasstab. Nun dekantiert man durch eine mit obigem Lösungsmittel und etwa 15 g Aluminiumoxyd „Woelm“ (anionotrop) gefüllte Adsorptionsröhre (Länge 300 mm, $\varnothing$ 11 mm), wäscht den Inhalt des Kölbchens unter Umschwenken mit sechs 25 ml-Portionen des Lösungsmittels nach und dekantiert jedesmal durch die Röhre. Durch Ansetzen eines schwachen Vakuums wird die Filtrationsgeschwindigkeit so geleitet, daß eine schnelle Tropfenfolge erhalten wird. Die erhaltene Lösung wird in einem Scheidetrichter dreimal mit je 50 ml dest. Wasser ausgeschüttelt. Die vereinigten Waschwasser werden nochmals mit Äther nachextrahiert. Leichte Emulsionsbildungen können durch Zugabe von wenig gesättigter Kochsalzlösung vermieden werden. Der Extrakt wird in üblicher Weise getrocknet und filtriert. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand nach Lösen in Eisessig mit Perchlorsäurelösung titriert.

Mikromethode.

Es ist uns bis heute nicht gelungen, eine spezifische Farbreaktion für diese Substanz zu finden.

Hingegen gelang es uns, eine sehr empfindliche Methode auf folgender Grundlage auszuarbeiten: Durch Kochen mit starker Säure wird Diazinon unter Entwicklung von Schwefelwasserstoff hydrolysiert. Dieser wird in Zinkacetatlösung absorbiert und anschließend mit Dimethyl-phenylendiamin und Eisenchlorid in Methylenblau übergeführt. Zu

diesem Zweck ist es notwendig, das Diazinon vorerst zu isolieren. Es sei diese Operation an einem besonders wichtigen Beispiel, nämlich der Bestimmung in Milch, beschrieben. Bekanntlich bietet die Extraktion der Neutralteile aus der Milch beträchtliche Schwierigkeiten. Wir bedienen uns dazu der Methode von GOTTLIEB-RÖSE⁵, die wir wie folgt modifiziert haben:

100 ml Milch werden mit 150 ml Äther-Petroläther (1:1) versetzt und gut durchgeschüttelt. Anschließend setzt man 10 ml konz. Ammoniak hinzu und schüttelt abermals kräftig durch. Nach weiterer Zugabe von 60 ml Äthanol schwenkt man einige Male um. Nach etwa viertelstündigem Stehenlassen haben sich die Schichten getrennt. Nach dem Ablassen der wäßrig-alkoholischen Schicht wiederholt man deren Ausschütteln mit weiteren 60 ml Äther-Petroläther. Die vereinigten Extrakte werden mit etwa 0,5 n Salzsäure und anschließend mit Wasser gewaschen. Dadurch werden Alkohol, Ammoniak und Salzsäure entfernt. Hierbei entstehende Zwischenemulsionen verschwinden nach längerem Stehen. Die Äther-Petrolätherlösung wird nun abdestilliert, der Rückstand zur vollständigen Entfernung des Äthers mit Petroläther versetzt, erneut eingedampft und wieder in ungefähr 100 ml Petroläther gelöst.

Es ist auch möglich, die Extraktion mit Petroläther allein durchzuführen. Man versetzt zu diesem Zweck 100 ml Milch mit 300 ml Wasser und 200 ml Petroläther und schüttelt gut durch. Hierauf setzt man 30 ml konz. Ammoniak und 100 ml Alkohol hinzu und schüttelt vorsichtig durch. Nach einigen Stunden wird getrennt und die Petrolätherschicht mit 50 ml 0,5 n Salzsäure gewaschen. Der Petroläther wird auf 100 ml eingedampft.

Der nach einer dieser Methoden erhaltene Extrakt wird nun mit 48%iger reinsten Bromwasserstoffsäure, welche zur Entfernung von Spuren Brom vorher mit rotem Phosphor stehen gelassen und dann dekantiert wird, extrahiert (die Bromwasserstoffsäure enthält manchmal Spuren von Schwefelverbindungen, die beim Erhitzen H_2S entwickeln; sie muß deshalb längere Zeit im N_2 -Strom erhitzt werden). Man setzt nun der zu extrahierenden Lösung 5 ml Bromwasserstoffsäure zu und schüttelt gut durch. Nach der Trennung der Schichten läßt man die Säure in den Zersetzungskolben B (Abb. 1) fließen, worauf noch zweimal mit je 5 ml Bromwasserstoffsäure ausgeschüttelt wird.

Apparatur und Reagentien.

Der verwendete Apparat ist in Abb. 1 skizziert. Zinkacetatlösung: 0,5%ig. p-Aminodimethylanilinchlorhydratlösung: 0,1%ig in Salzsäure (1:1). Eisenchloridlösung: 1 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 50 ml Wasser.

Der Zersetzungskolben mit dem HBr-Extrakt wird an den Kühler angeschlossen. In die Vorlage gibt man 7 ml Zinkacetatlösung. Man läßt

durch Natronlauge gewaschenen Stickstoff durch die Apparatur perlen. Nach 10 min (Verdrängen der Luft) bringt man durch ein kleines Flämmchen die Bromwasserstoffsäure zum Sieden. Während die Säuredämpfe durch den Kühler kondensiert werden, wird der entwickelte Schwefelwasserstoff durch den Stickstoff in die Vorlage getrieben, dort absorbiert und als ZnS gefällt. Größere Mengen lassen sich an der ZnS -Trübung erkennen. Während 2 Std wird nun Stickstoff durchgeleitet und die Bromwasserstoffsäure im Sieden gehalten.

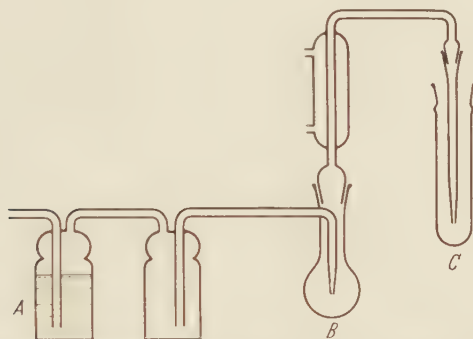


Abb. 1. Apparat zur H_2S -Entwicklung. — *A* Waschflasche mit Natronlauge; *B* Zersetzungskolben, 50 ml; *C* Vorlage: graduiertes Reagensglas mit Schliffstopfen, 10 ml. Gummischläuche sind zu vermeiden. Wo Verbindungen notwendig sind, verwendet man Polyäthylenschlauch.

Die Zinkacetatvorlage wird nun abgenommen und, sofern nicht mehr als 200–300 μg Diazinon in der Probe anwesend waren, rasch aufeinanderfolgend mit 0,5 ml der p-Aminodimethylanilinchlorhydratlösung und 0,1 ml der FeCl_3 -Lösung versetzt. Die Vorlage wird mit einem Schliffstopfen verschlossen und geschüttelt. Wenn nach $\frac{1}{4}$ Std kein Geruch nach Schwefelwasserstoff feststellbar ist, kann die Bestimmung als gelungen betrachtet werden. Nach weiteren 15 min kann die Färbung gemessen werden.

Wir messen die Färbung spektralphotometrisch mit dem Instrument Beckman DU bei 670 $\text{m}\mu$. Als Vergleichsbasis muß eine Eichkurve — diese ist etwas gekrümmt — mit bekannten Mengen Diazinon nach dem beschriebenen Verfahren aufgenommen werden. Die Ausbeute an Schwefelwasserstoff ist etwa 80%ig.

Mit 100 ml Milch können bereits 0,1 ppm. Diazinon bestimmt werden. Diazinonfreie Milch ergibt die Reaktion nicht. Da das Diazinon mit Säure aus dem Fett herausgelöst wird, kann es mittels der besprochenen Methode auch neben allfällig anwesendem Parathion [0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-thiophosphat] bestimmt werden.

Eine spektralphotometrische Methode zur Bestimmung des Diazinons wurde von HARRIS angegeben. Er hydrolysiert das Diazinon und entfernt

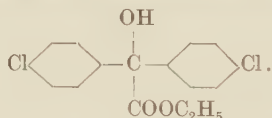
aus stark saurer und stark alkalischer Lösung die Begleitstoffe. Hierauf extrahiert er aus der ganz schwach sauren wäßrigen Lösung das bei der Hydrolyse entstandene Isopropylmethyloxypyrimidin mit Chloroform. Wir haben das Isopropylmethyloxypyrimidin statt durch Extraktion mit Hilfe eines Kationenaustauschers abgetrennt, daraus mit Salzsäure extrahiert und die salzsaure Lösung direkt im UV-Licht gemessen.

Auch mittels der Ultrarotabsorption haben wir Diazinon in der Milch bestimmt. Das mit Säure isolierte Diazinon wurde aus schwach saurer Lösung mit Äther extrahiert, der Äther abdestilliert und aus dem Rückstand das Diazinon von störenden Begleitstoffen mit Wasser abdestilliert (es werden etwa 40 ml Wasser zugesetzt und davon 10 ml abdestilliert). Das Destillat wird mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert und davon die Absorption im UR gemessen. Die Nachweisgrenze lag ebenfalls bei 0,1 ppm.

Als eine basische Verbindung kann das Diazinon auch mit Heteropolysäuren, wie Phosphorwolframsäure, Silicowolframsäure usw. nachgewiesen werden. Es lassen sich damit noch Mengen von 10 µg/ml durch deutliche Trübung feststellen. Zu diesem Zweck versetzt man 10 ml der zu prüfenden wäßrigen Lösung mit 0,2 ml Salzsäure (1:1) und 0,5 ml einer 4%igen Natriumphosphorwolframatlösung.

2. Chlorbenzilat.

Chemische Bezeichnung und Konstitution: 4,4'-Dichlorbenzilsäureäthylester:



Physikalische Daten der chemisch reinen Substanz: Weißes, kristallines Pulver mit schwach esterartigem Geruch. F: 38° C. Kp 0,06 mm. 141—142° C.

Das technische Produkt ist eine bräunliche, viscose Flüssigkeit mit einem Gehalt von 90—98%, die in Wasser praktisch unlöslich, mit Alkohol, Aceton, Xylol und Petroläther in jedem Verhältnis mischbar ist. Als Verunreinigungen kommen in Frage: Äthyläther des Dichlorbenzilsäureäthylesters und p-Chlorbenzoesäureester.

Makromethode.

Die Gehaltsbestimmung erfolgt durch Verseifen des Esters mit alkoholischer Lauge, sowie durch Acetylieren nach folgender Methode: 3—4 g werden in einem Schliffgrundkolben von 100 ml Inhalt tropfenweise mit 5,00 ml des Acetylierungsgemisches (50 ml Essigsäureanhydrid + 10 bis 20 Tropfen konz. Schwefelsäure) versetzt. Nach Aufsetzen des Glasstopfens wird sofort umgeschwenkt, bis sich die Substanz im Acetylierungsgemisch aufgelöst hat, wobei Erwärmung eintritt. Das Acetylierungsprodukt kristallisiert aus; andernfalls muß die Acetylierung mit

einem stärker schwefelsäurehaltigem Gemisch (20–30 Tropfen Schwefelsäure auf 50 ml) wiederholt werden. Nach 1 Std wird das überschüssige Anhydrid mit 70 ml Wasser hydrolysiert, indem man eine weitere Stunde stehen läßt. Man spült mit Wasser und Äther in einen 500 ml-Kolben und titriert die Essigsäure mit *n* Natronlauge. Gleichzeitig wird unter gleichen Bedingungen ein Blindversuch angesetzt.

Fertigprodukte.

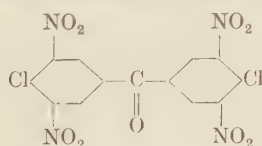
Aus Chlorbenzilat-Stäube- und -Spritzmitteln, sowie Räucherpapier kann die Wirksubstanz durch Extraktion im Soxhlet-Apparat abgetrennt werden. Die Gehaltsbestimmung im Extrakt erfolgt durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge (oder durch Chlorbestimmung nach STEPANOW (Reduktion mit Natriummetall in Isopropanol). In emulgierbaren Lösungen wird die Bestimmung ohne vorherige Extraktion durchgeführt.

Mikromethode.

Hier haben wir das Prinzip der Methoden nach SCHECHTER u. HALLER⁸ angewandt (die Methode wurde von uns an H. J. HARRIS, Geigy, New York, weitergegeben, der in J. Agr. Food Chem. 2, 1080 [1954] erwähnt wird).

Das behandelte Material wird vorerst gründlich mit Äther extrahiert. Die klare und mit verdünnter Natronlauge gewaschene Ätherlösung wird abdestilliert. Der Rückstand wird in 50 ml Aceton gelöst, mit genügend methanolischer Natronlauge versetzt und $\frac{1}{2}$ Std bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zwecks vollständiger Verseifung wird anschließend noch $\frac{1}{2}$ Std gekocht. Das Stehenlassen der Acetonlösung vor dem Kochen hat den Zweck, eventuell vorhandenes DDT quantitativ in die Äthylenverbindung überzuführen: bei der warmen Verseifung wird bekanntlich ein Teil des o, p'-Isomeren in die Carbonsäure (DDA) überführt.

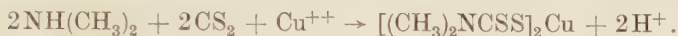
Die verseifte Lösung wird nun mit dem gleichen Volumen Wasser in einen Scheidetrichter gespült und mit Petroläther das Unverseifbare vollständig entfernt. Die Dichlorbenzilsäure und Fettsäuren bleiben in der wäßrigen Lösung. Diese wird in einer Schale auf dem Wasserbad bis zur Entfernung der organischen Lösungsmittel eingedampft. Nun wird mit 200–300 ml Wasser verdünnt und mit Filterhilfsmittel Hyflo-Supercel versetzt, worauf man die Fettsäuren in der Wärme mit einem Überschuß von Bariumchlorid fällt. Nach dem Abkühlen wird filtriert. Das Filtrat säuert man an und extrahiert mit Äther. Die erhaltene Dichlorbenzilsäure wird nach SCHECHTER u. HALLER⁸ nitriert, wobei diese in das Tetranitrodichlorbenzophenon übergeführt wird:



Isolanlösungen werden ohne vorherige Extraktion nach der beschriebenen Methode bestimmt.

Mikromethode.

Die Methode beruht auf der colorimetrischen Bestimmung des bei der Verseifung entstehenden Dimethylamins nach DOWDEN² auf Grund folgender Reaktion:



Reagentien.

A) 5% CS_2 in Benzol. — B) 20 g Ammoniumacetat + 0,2 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ werden in 30 ml Wasser gelöst und in der Kälte mit einer Lösung von 10 g NaOH in 25 ml Wasser gemischt, 20 ml NH_3 (D 0,88) zugesetzt und mit Wasser auf 100 ml gestellt. — C) Essigsäure, 30%ig.

Die zu untersuchende Probe wird in einem 300 ml-Erlenmeyer-Schliffkolben mit 50–60 ml Wasser und 10 ml konz. Natronlauge versetzt und mittels eines Überspritzers an eine Vorlage von etwa 10 ml 0,02 n Salzsäure angeschlossen. Man erhitzt nun zu gelindem Sieden und destilliert innerhalb von etwa $\frac{3}{4}$ Std den Hauptteil des Wassers mit dem Dimethylamin in die Vorlage. Deren Inhalt wird anschließend in ein 100 ml Kölbchen gespült, mit wenig Phenolphthalein versetzt, mit 0,1 n Natronlauge neutralisiert und dann zur Marke aufgefüllt.

Zu 10 ml der neutralen Dimethylaminlösung (5–150 μg) werden in einem kleinen Erlenmeyer-Schliffkölbchen 1 ml der Lösung B und 10 ml der Lösung A gegeben und 1–2 min in einem Wasserbad von 40–50° C unter Umschwenken und unter Verschuß geschüttelt, bis sich die zu bildende Gelb- oder Braunfärbung entwickelt hat. Nun versetzt man mit 1 ml Lösung C und schüttelt erneut gut durch. Dann läßt man abkühlen, bis sich die obere Schicht klärt. Die benzolische Lösung wird in ein Reagensglas gegossen. Die Extinktion wird mittels des PULFRICH-Photometers, Filter 47, oder mit dem Beckman DU gemessen. Ammoniak, Monomethylamin und Trimethylamin geben diese Reaktion nicht, wohl aber alle aliphatischen, sekundären Amine und Piperidin.

Literatur.

- ¹ BLINN, R. C., F. A. GÜNTHER and M. J. KOLBEZEN: Agric. Food Chem. **2**, 1080 (1954). — ² DOWDEN, H. C.: Biochemic. J. **32**, 455 (1938); C. A. **32**, 5426 (1938). — ³ GASSER, R.: Experientia (Basel) **8**, 65 (1952). — ⁴ GASSER, R.: Z. Naturforsch. **8**, 225 (1953). — ⁵ GOTTLIEB, E.: Landwirtsch. Versuchsstat. **40**, 1; vgl. diese Z. **32**, 252 (1893). — ⁶ GROB, H.: C.-r. du IIIème Congr. int. Phytopharmacie (1952). — ⁷ GYSIN, H.: Chimia (Zürich) **8**, 205 (1954). — ⁸ SCHECHTER, M. S., and H. L. HALLER: J. Amer. chem. Soc. **66**, 2129 (1944); SCHECHTER, M. S., S. B. SOLOWAY, R. A. HAYES and H. L. HALLER: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **17**, 704 (1945). — ⁹ SCHECHTER, M. S., and I. HORNSTEIN: Analyt. Chemistry **24**, 544 (1952);

vgl. diese Z. **139**, 307 (1953). — ¹⁰ SCHRADER, G.: Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Monographien zu „Angewandte Chemie“ und „Chemie-Ingenieur-Technik“ Nr. 62, 1941.

J. R. GEIGY, A.G., Basel, Analyt. Laboratorium.

Aus dem Chemisch-technischen Institut der Technischen Hochschule Aachen.

Über eine neue coulometrische Zelle.

Von

W. FUCHS und W. QUADT.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Mai 1955.)

Zusammenfassende Darstellungen der Coulometrie wurden von TUNDŽIĆ²⁷ und LINGANE¹⁵ gegeben. DE FORD, PITTS u. JOHNS^{10, 11} schlugen für coulometrische Titrationsen mit außerhalb des Titriergefäßes erzeugten Reagentien („external technique“) die in Abb. 1 gezeigte zweiarmige Zelle vor, in der sie H- und OH-Ionen und Jod darstellten. Später benutzten PITTS, DE FORD, MARTIN u. SCHMALL²² eine einarmige Zelle, die in dieser Z. **145**, 277 (1955) abgebildet ist. Weitere Einzelheiten sind den Originalarbeiten zu entnehmen.

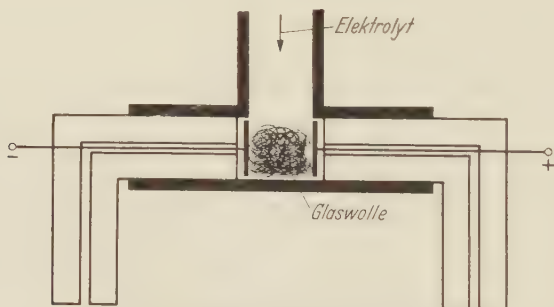


Abb. 1. Zweiarmige Zelle nach DE FORD.

Die Feststellung des Endpunktes kann bei coulometrischen Bestimmungen auf die gleiche Weise erfolgen wie bei üblichen volumetrischen Titrationsen. Vorausgesetzt, daß Farbindicatoren unter den gegebenen Bedingungen nicht in Elektrodenreaktionen verwickelt werden, können sie mit gutem Erfolg benutzt werden^{6, 11, 26, 29}. Häufig wird die potentiometrische Endpunktsanzeige^{6, 7, 8, 10, 12, 19–21}, oder die amperometrische Anzeigemethode angewandt^{2, 3, 9, 17, 18, 23, 24, 30}. Die beiden letztgenannten Verfahren können, neben ihrer Anwendung in automatischen coulo-

metrischen Titriergeräten^{4, 5, 10, 14, 16, 28} in Verbindung mit coulometrischen Dosiereinrichtungen bei der Überwachung technischer Prozesse oder bei kontinuierlichen Gasanalysen, z. B. der fortlaufenden Bestimmung von Senfgas in Luft²⁵, mit Erfolg eingesetzt werden.

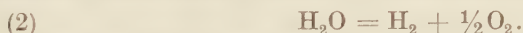
Spezielle elektrochemische Probleme bei der elektrolitischen Erzeugung von Wasserstoff-Ionen, Hydroxyl-Ionen und von Jod.

Für coulometrische Titrationsen mit Wasserstoff- oder Hydroxyl-Ionen kommen als Generatorelektrolyt ausschließlich die wäßrigen Lösungen der schwefelsauren, salpetersauren, phosphorsauren und überchlorsauren Alkalisalze in Frage. Substanzen, die selbst schon Wasserstoff-Ionen oder Hydroxylgruppen enthalten, also Säuren, Basen und Salze, die der Hydrolyse unterliegen, scheiden aus, weil die bereits anwesenden H- bzw. OH-Ionen rechnerisch nicht erfaßt und bei der Auswertung der coulometrischen Analyse nicht berücksichtigt werden können. Auch die wäßrigen Lösungen der Alkalihalogenide kommen als Generatorelektrolyt für die Entwicklung von H-Ionen nicht in Betracht, weil die Stromausbeute der Anodenreaktionen in bezug auf die im Sekundärprozeß entstehenden H-Ionen nicht 100%ig ist.

H- und OH-Ionen entstehen durch anodische Oxydation bzw. kathodische Reduktion des Wassers. Bei der Elektrolyse von beispielsweise Na_2SO_4 -Lösungen zwischen glatten Platinelektroden finden folgende Elektrodenreaktionen statt:



Aus den Gleichungen (1a) und (1b) erhält man die Gesamt-Zellenreaktion



Für die Zersetzung des Wassers nach Gleichung (2) ist eine Spannung von 1,7 V erforderlich. Dieser relativ hohe Wert resultiert aus der hohen Überspannung für die Sauerstoffentwicklung an glatten Platinanoden; sie beträgt 0,4–0,5 V. Die Überspannung, die für die Wasserstoffabscheidung an der Kathode notwendig ist, kann praktisch vernachlässigt werden. Bei der elektrolitischen Erzeugung von H- und OH-Ionen für coulometrische Titrationsen ist von Bedeutung, daß die Elektrodenreaktionen (1a) und (1b) immer dann mit 100%iger Stromausbeute verlaufen, wenn keine leichter reduzierbaren und oxydierbaren Substanzen als das Wasser selbst im Elektrolyten vorhanden sind.

Damit sich die anodisch und kathodisch erzeugten H- bzw. OH-Ionen nicht wieder vereinigen, bevor sie in die zu untersuchende Lösung gelangen, ist es notwendig, Anoden- und Kathodenraum durch ein Diaphragma aus Ton oder Frittglas voneinander zu trennen. Gleichgültig,

ob mit H- oder OH-Ionen titriert wird, muß in beiden Fällen das Elektrolyseprodukt der anderen Elektrode abgeführt oder von der Arbeitselektrode ferngehalten werden, damit es dort keinen störenden Einfluß ausübt. Lösungen dieser Aufgabe werden im folgenden gegeben.

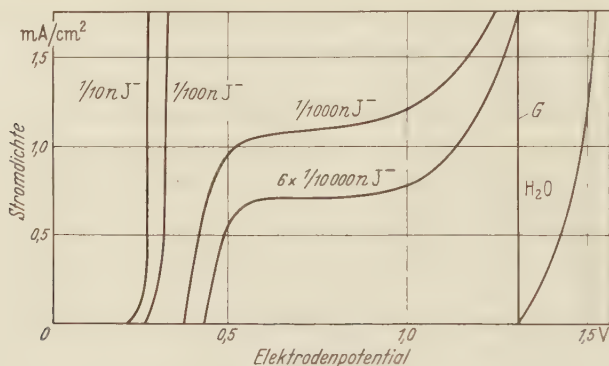


Abb. 2. Strom-Spannungs-Kurven.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der elektrolytischen Erzeugung von Jod und anderen Halogenen, deren Oxydationspotential selbst bei Berücksichtigung der anodischen Überspannung weit unter dem des Wassers liegt. Bei der Beurteilung, ob Kaliumjodid in wäßriger Lösung durch Elektrolyse mit 100%iger Stromausbeute oxydiert wird, leisten die Strom-Spannungs-Kurven gute Dienste. BADOZ-LAMBLING¹ hat diese Kurven bei verschiedenen Jodidkonzentrationen aufgenommen. Abb. 2 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen.

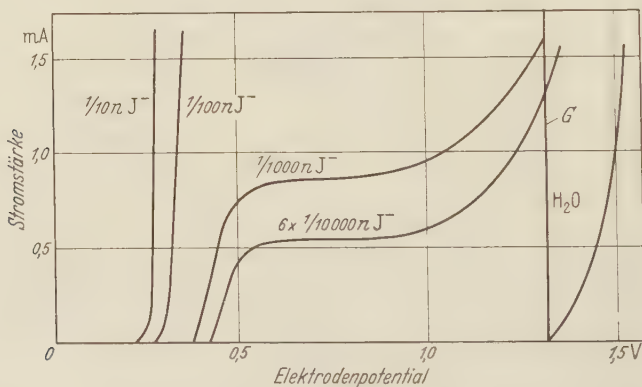


Abb. 3. Stromdichte-Spannungs-Kurven.

Damit man die Werte, die BADOZ-LAMBLING gefunden hat, auch auf andere Messungen anwenden kann, wurden in der vorliegenden Arbeit

die Ströme auf die Elektrodenoberfläche ($0,8 \text{ cm}^2 \text{ Pt}$) bezogen. Es ergaben sich so aus den Strom-Spannungs-Kurven die Stromdichte-Spannungs-Kurven, die in Abb. 3 dargestellt sind.

Man erkennt, daß sich bei geringen Konzentrationen (10^{-3} und $6 \cdot 10^{-4} \text{ n}$) eine Diffusionsstufe ergibt, welche nach Annahme¹ die Oxydation des Jodids zu JO^- und JO_3^- anzeigt. Die maximal zulässige Stromdichte für die Oxydation eines Jodids mit 100%iger Stromaubeute ist durch den Schnittpunkt der vom Fußpunkt der Oxydationskurve des Wassers gezeichneten Senkrechten G mit der Stromdichte-Spannungs-Kurve des betreffenden Jodids gegeben. Sie beträgt, wie aus Abb. 3 hervorgeht, $1,7 \text{ mA cm}^2$ für $6 \cdot 10^{-4}$ und etwa 2 mA/cm^2 für 10^{-3} n Jodidlösung. Bei höheren Konzentrationen (10^{-2} und 10^{-1} n), wie sie in vorstehender Arbeit verwandt wurden, kann man mit größter Sicherheit aussagen, daß bei Einhaltung einer Stromdichte von 2 mA/cm^2 die Oxydation des Jodids zu Jod ohne eine gleichzeitige Oxydation des Wassers erfolgt. Bei der Konstruktion einer Elektrolysierzelle für die elektrolytische Entwicklung von Jod mit 100%iger Stromaubeute hat man bei vorgegebenem Elektrolysenstrom die Anodenoberfläche so groß zu gestalten, daß die zulässige Stromdichte nicht überschritten wird. Weiterhin ist für die quantitative Ausbeute an elektrolytisch erzeugtem Jod von Bedeutung, daß die kathodischen Reduktionsprodukte — bei Verwendung von Kaliumjodid als Generatorelektrolyt Hydroxyl-Ionen, welche infolge der Potentialdifferenz und des Konzentrationsunterschiedes die Tendenz haben, zur Anode hinzuwandern — nicht mit J_2 in Berührung kommen, weil nach den Gleichungen



Hypo-jodit und Jodat entstehen. Nunmehr wird gezeigt, durch welche Maßnahmen die OH^- -Ionen im Kathodenraum abgefangen werden, bevor sie in die Anodenzone gelangen. Unsere Zelle ist in Abb. 4 dargestellt.

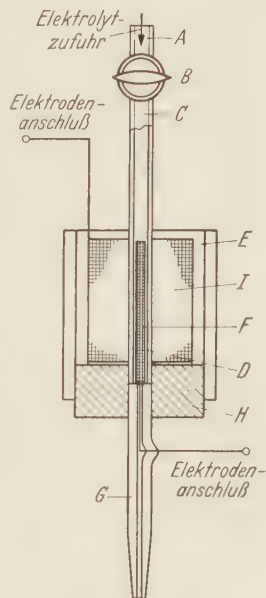


Abb. 4.
Neue coulometrische Zelle.

Es handelt sich um eine Einarm-Durchflußzelle. Der Zufluß des Generatorelektrolyten erfolgt durch das Zuleitungsrohr A , in welchem sich zur Regulierung der Durchflußgeschwindigkeit ein Absperrhahn B befindet. An das Zuleitungsrohr schließt sich ein Tonrohr C an, welches die beiden Elektrodenräume D und E voneinander trennt. Im Tonrohr selbst ist die Arbeitselektrode F , also die Elektrode, an der das zur Titration verwandte Reagens erzeugt wird, angeordnet. Sie ist ein rohr-

förmiges Gebilde aus Platinnetz (50 Maschen/cm², 0,15 mm Drahtstärke). Die effektive Elektrodenoberfläche ergibt sich aus den geometrischen Abmessungen des Netzes, multipliziert mit einem Faktor, der größer als 1 ist. Bei den oben angegebenen Dimensionen des Netzes entspricht 1 cm² Pt-Netzfläche einer metallischen Platinoberfläche von 4,6 cm². Die Netzfläche der Innenelektrode beträgt etwa 440 mm², demnach ist die effektive Elektrodenoberfläche $4,4 \cdot 4,6 = 20,2$ cm². Die Zuleitung des elektrischen Stromes erfolgt durch einen 0,6 mm starken Pt-Ir-Draht, der von unten an die Elektrode herangeführt ist. Gemäß Abb. 4 ist der Draht in eine Glascapillare *G* (0,8 mm Innendurchmesser), die sich an das untere Ende des Tonrohres anschließt, und durch die das erzeugte Reagens abgeführt wird, eingeschmolzen. Die Stoßfuge zwischen Tonrohr und Capillare wird durch einen Gummistopfen *H* überbrückt und abgedichtet. Dieser Gummistopfen stellt gleichzeitig den Boden des äußeren Elektrodenraumes *E* dar. In diesem ist eine zylinderförmige Pt-Netzelektrode (20 Maschen/cm², 0,2 mm Drahtstärke) konzentrisch um das Tonrohr angeordnet; sie hat eine effektive Oberfläche von etwa 160 cm². Der Raum *E* kann auch nach oben hin mit einem Gummistopfen abgeschlossen werden. Dadurch wird erreicht, daß der bei Betrieb infolge der Gasentwicklung im Raum *E* entstehende leichte Überdruck dem hydrostatischen Druck, der im Zuleitungsrohr *A* und im Inneren des Tonrohres *C* herrscht, entgegenwirkt und verhindert, daß die an der Arbeitselektrode *F* entwickelten Reagentien durch die Tonrohrwand in den Außenraum *E* hineindiffundieren. Der Außenraum *E* dient zur Aufnahme gewisser Stoffe, die auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften mit den sekundär an der Außenelektrode entstehenden H- bzw. OH-Ionen zu unlöslichen Verbindungen und Wasser reagieren.

Bei der Erzeugung von OH-Ionen aus Na₂SO₄-Lösung wurde die Außenelektrode, also die Anode mit einem wäßrigen Brei von Bariumcarbonat umgeben, dem einige Milliliter 10%ige Na₂SO₄-Lösung zugesetzt waren. Die anodisch entwickelte Schwefelsäure reagiert mit dem Carbonat unter Bildung von Wasser, Kohlendioxyd und unlöslichem Bariumsulfat, und demzufolge können keine H-Ionen das Diaphragma erreichen und in den Kathodenraum hineindiffundieren. Eine ähnliche Wirkung wie mit BaCO₃ wurde mit einem Anionenaustauscher (Lewatit MN) erreicht, der nach der Gleichung

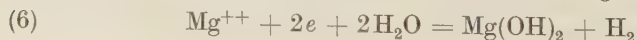


mit dem Säurerest einen unlöslichen Komplex bildet und die Wasserstoff-Ionen durch Hydroxylgruppen zu Wasser neutralisiert.

Bei der Erzeugung von H-Ionen wurde, um die kathodisch entstandenen OH-Ionen zu binden, als Katholyt ein Kationenaustauscher (Lewatit S 100) verwandt. Die Reaktion in der Kathodenzone verläuft nach Gleichung



Eine zweite Möglichkeit, die Base unschädlich zu machen, war durch die Verwendung von MgSO₄ als Generatorelektrolyt und Katholyt gegeben. An der Kathode entsteht nach der Gleichung



Magnesiumhydroxyd. Letzteres ist praktisch unlöslich, und demzufolge besteht kaum eine Möglichkeit, daß die in verschwindend geringer Menge vorhandenen OH-Ionen in den Anodenraum gelangen.

Bei der elektrolytischen Erzeugung von Jod aus KJ-Lösung wurde, wie bei der Entwicklung von H-Ionen, der Außenraum *E* mit einem Kationenaustauscher beschickt, welcher mit der an der Kathode entstandenen Kalilauge entsprechend der Gleichung (5) reagiert.

Eine übersichtliche Darstellung der einzelnen Austauscher als OH⁻-Binder im Kathoden- und als H⁺-Binder im Anodenraum zeigt Tab. 1.

Tabelle 1.

Reagens	Generatorelektrolyt	OH ⁻ -Binder im Kathodenraum	H ⁺ -Binder im Anodenraum
H ⁺	1 m Na ₂ SO ₄	Lewatit S 100	—
H ⁺	1 m MgSO ₄	—	—
OH ⁻	1 m Na ₂ SO ₄	—	BaCO ₃
OH ⁻	1 m Na ₂ SO ₄	—	Lewatit MN
J ₂	0,5 m KJ	Lewatit S 100	—

Der OHM'sche Widerstand der Zelle ist bei Verwendung der Ionenaustauscher als Anolyt bzw. Katholyt und bei den in Tab. 1 angegebenen Konzentrationen der Generatorelektrolyten etwa 40—60 Ohm, also um etwa 10—20 Ohm höher als der Widerstand der von DE FORD¹⁰ entwickelten T-Rohrzelle. Die Aufrechterhaltung von Strömen von 200 mA verlangt also Spannungen zwischen 8 und 12 V.

Apparatur für die coulometrischen Titrationen.

Zur Erprobung der Meßgenauigkeit der Elektrolysezelle wurde die Versuchsanordnung Abb. 5 verwendet.

Als Stromquelle diente der von DE FORD, PITTS u. JOHNS¹⁰ entwickelte Stromstabilisator. Befindet sich der zweipolige Umschalter *S* in Stellung 1, so daß also die Klemmen *A* mit *A'* und *C* mit *C'* verbunden sind, dann ist der Elektrolysenstromkreis geschlossen. Die elektrisch betätigte Additionsstoppuhr *U* (Fabrikat Junghans) liegt zusammen mit dem elektromagnetischen Ventil *V*, das den Weg für den Generatorelektrolyten freigibt,

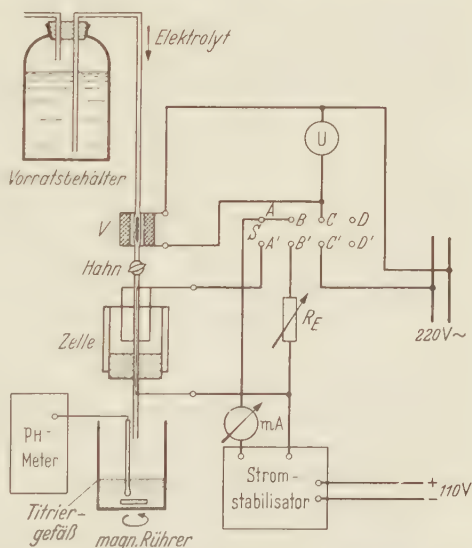


Abb. 5. Versuchsanordnung zur Coulometrie.

Die elektrisch betätigte Additionsstoppuhr *U* (Fabrikat Junghans) liegt zusammen mit dem elektromagnetischen Ventil *V*, das den Weg für den Generatorelektrolyten freigibt,

am Wechselstromnetz. Das in der Zelle *Z* elektrolytisch erzeugte Reagens gelangt kontinuierlich in das Titriergefäß. Wenn der Endpunkt der Reaktion, welcher potentiometrisch oder durch einen Farbindicator angezeigt wird, erreicht ist, wird durch Umlegen des Schalters *S* in Stellung 2 die Elektrolyse unterbrochen und der Strom durch den Zellenersatzwiderstand R_E geleitet. Gleichzeitig werden auch Uhr und Ventil spannungslos. Der regulierbare Widerstand R_E ist so eingestellt, daß seine Größe etwa der des Zellenwiderstandes R_Z entspricht. Der Stromstabilisator arbeitet also auch, wenn nicht titriert wird und ist nach Wiedereinschalten der Elektrolyse sofort betriebsbereit, da keine neue Anheizzeit für die Röhren und Widerstände notwendig ist. Vor Inbetriebnahme wurde bei allen Titrationen eine Anheizzeit des Stabilisators von etwa 30 min eingehalten.

Als Strommeßgerät diente ein Multizet (S. & H. 211244 F6). Das Instrument gehört zur Güteklasse 1,5, d. h. die Ablesungen können in allen Meßbereichen mit einem maximalen Fehler von $\pm 1,5\%$ des Skalenendwertes behaftet sein. Vor Verwendung wurde es als Strommesser für coulometrische Titrationen mittels eines elektrolytischen Coulometers geeicht. Als Korrekturfaktor ergab sich in allen Meßbereichen des Instruments der Wert 1,009. Bei der Auswertung der coulometrischen Analysen ist also der am Instrument angezeigte Strom immer mit 1,009 zu multiplizieren.

Durchführung von Testversuchen.

Mit der in Abb. 5 dargestellten Apparatur wurde eine Reihe von Testversuchen durchgeführt und für jede Meßreihe die Standardabweichung *SD* ermittelt. Für die Kennzeichnung eines möglichen systematischen Fehlers innerhalb der Messungen ist die Abweichung *l* des Mittelwertes einer Meßreihe vom Sollwert der betreffenden Reihe angegeben.

Im folgenden sind die Definitionen der in den Tab. 2 (S. 191), 3 (S. 192), 4 (S. 193) aufgeführten Meß- und Fehlergrößen gegeben.

Anzahl der Einzelmessungen:	n
Sollwert:	x_s (vorgelegte mval)
Meßwert:	$(t_i$ [gemessene Zeit])
	x_i (aus t_i berechnete mval)

$$\text{Mittelwert einer Meßreihe: } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$\text{Standardabweichung vom Mittelwert: } SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\text{Systematischer Fehler in der Meßreihe: } A = \frac{\bar{x} - x_s}{x_s} \cdot 100 \%$$

Versuchsergebnisse.

In den folgen Versuchen wurden bestimmte Mengen Salzsäure, deren Faktor mit Hilfe von Natriumcarbonat als Urtiter ermittelt worden war, vorgelegt und mit elektrolytisch erzeugten OH-Ionen titriert. Es wurde die bis zum Endpunkt der Reaktion verflossene Zeit t_i gemessen; daraus

wurden die gefundenen Milliäquivalente x_i berechnet. Bei der ersten Meßreihe wurde BaCO_3 als H^+ -Binder verwandt, bei den zwei folgenden Meßreihen ein Anionenaustauscher.

Tabelle 2. *Coulometrische Titration von HCl mit elektrisch erzeugten OH-Ionen.*

Meßreihe Nr.	1	2	3
Sollwert x_s mval	0,9995	0,9995	0,932
Experimentelle Werte* x_i mval .	0,998	0,999	0,933
	0,998	0,999	0,932
	0,998	0,991	0,933
	0,999	0,998	0,930
	0,990	0,990	0,932
	0,990	0,991	0,931
	0,999	1,000	
Mittelwert $\bar{x}$ mval.	0,996	0,9954	0,9318
Standardabweichung vom Mittelwert SD %	$\pm 0,41$	$\pm 0,44$	$\pm 0,16$
Systematischer Fehler Δ % . . .	$-0,35$	$-0,41$	$-0,02$
Stromstärke mA	252,25	100,9	201,8
Durchflußgeschwindigkeit ml/sec	0,1	0,3	0,5
Konzentration des gebildeten Reagenses val/l	0,0261	0,0348	0,0419
Generatorelektrolyt	1 m Na_2SO_4	1 m Na_2SO_4	1 m Na_2SO_4
H^+ -Binder im Anodenraum. . .	BaCO_3	Lewatit MN	Lewatit MN
Endpunktsanzeige.	Farbindicator	Farbindicator	Farbindicator

* Berechnet aus den experimentell ermittelten Zeiten.

Bei der coulometrischen Bestimmung von Natronlauge, die mit Hilfe einer Salzsäure bekannten Titors eingestellt war, wurde zur Endpunktsanzeige ein pH -Meter verwandt. Die Indicatorelektrode, eine kombinierte Glas-Kalomelelektrode, wurde möglichst nahe an die Stelle gebracht, an der das Reagens in die zu untersuchende Lösung eintropfte. Unter kräftiger Rührung wurde die Titration durchgeführt und bei Erreichen des Äquivalenzpunktes (pH 6,2 = pH -Wert des Generatorelektrolyten) abgeschlossen. Als Generatorelektrolyt und Katholyt diente bei den Meßreihen 4—6 eine 1 m Magnesiumsulfatlösung. Bei der Verwendung von Na_2SO_4 (Meßreihen 7 und 8) wurde als Katholyt ein Kationenaustauscher in den Außenraum der Elektrolysezelle eingebracht.

Zur Erreichung einer 100%igen Stromausbeute wurde die Elektrolysenstromstärke nicht größer als 40 mA gewählt, damit die Stromdichte von 2 mA/cm² nicht überschritten wurde. Ferner wurde ein Kationenaustauscher, Lewatit S 100, in den Kathodenraum eingebracht, um der Entstehung von Hypojodit und Jodat nach den Gleichungen (3a) und

(3b) vorzubeugen. Damit die Oxydation des vorgelegten Arsentrioxyds, welches als Reinstsubstanzen vorlag, quantitativ verläuft, muß die Reaktion in hydrogencarbonathaltiger Lösung erfolgen. Zur Erkennung des End-

Tabelle 3. *Coulometrische Titration von NaOH mit elektrolytisch erzeugten H-Ionen.*

Meßreihe Nr.	4	5	6	7	8
Sollwert x_s mval	0,998	0,2994	0,7984	0,998	0,0998
Experimentelle Werte x_i mval	1,000 1,000 1,001 1,001 1,0008 1,0006 1,0001	0,3001 0,3002 0,3000 0,3003 0,3009 0,3009	0,8010 0,8009 0,8002 0,8001 0,8002	1,0009 1,000 1,002 1,004 1,0001 1,004 1,000 1,003	0,1009 0,1008 0,1000 0,1007 0,1007 0,1005
Mittelwert $\bar{x}$ mval	1,0005	0,3004	0,8005	1,0017	0,1006
Standardabweichung vom Mittelwert SD %	$\pm 0,04$	$\pm 0,13$	$\pm 0,054$	$\pm 0,174$	$\pm 0,32$
System. Fehler Δ %	+ 0,25	+ 0,34	+ 0,25	+ 0,37	+ 0,8
Stromstärke mA	201,8	302,7	221,98	252,25	100,9
Durchflußgeschwindigkeit ml/sec	0,1	0,1	0,3	0,1	0,5
Konzentration des gebil- deten Reagenses val/l	0,0208	0,0313	0,0076	0,0261	0,00208
Generatorelektrolyt	1 m MgSO ₄	1 m MgSO ₄	1 m MgSO ₄	1 m Na ₂ SO ₄	1 m Na ₂ SO ₄
Endpunktsanzeige	Metrohm pH-Meter	Metrohm pH-Meter	Metrohm pH-Meter	Metrohm pH-Meter	Metrohm pH-Meter

punktes der Reaktion wurde im Titriergefäß eine geringe Menge Stärkelösung zugesetzt. Die Anzeige des Äquivalenzpunktes erfolgte durch die intensive Blaufärbung der Lösung beim geringsten Überschuß von freiem Jod.

Kritik der Versuchsergebnisse.

Für die Beurteilung der entwickelten Durchflußzelle hinsichtlich der Genauigkeit, mit der H- und OH-Ionen und Jod elektrolytisch dosiert werden können, ist eine kritische Betrachtung der Meßwerte notwendig. Die dafür erforderlichen charakteristischen Größen aller Meßreihen sind in den Tab. 2—4 aufgeführt.

Ein Vergleich der Meßreihen 1 und 2 mit 4 oder 7 zeigt, daß die Versuchsreihen, bei welchen die Endpunktsbestimmung potentiometrisch erfolgte, niedrigere Standardabweichungen aufweisen, als diejenigen Messungen, bei denen unter sonst nahezu gleichen Versuchsbedingungen der Endpunkt durch einen Farbindicator angezeigt wurde.

Der systematische Fehler, welcher die prozentuale Abweichung des Mittelwertes einer Meßreihe vom Sollwert der betreffenden Reihe kennzeichnet, ist bei den Bestimmungen von Säuren mit elektrolytisch entwickelten OH-Ionen immer negativ, während er bei der Titration mit

Tabelle 4. *Oxydation von AsO_3^{3-} mit elektrolytisch erzeugtem Jod.*

Meßreihe Nr.	9	10
Sollwert x_i mval	0,1000	0,1000
Experimentelle Werte x_i mval	0,1009 0,1009 0,1011 0,1008 0,1007 0,1007 0,1006	0,1010 0,1008 0,1001 0,1011 0,1008
Mittelwert $\bar{x}$ mval	0,1008	0,1008
Standardabweichung vom Mittelwert SD %	$\pm 0,17$	$\pm 0,3$
System. Fehler Δ %	+ 0,8	+ 0,8
Stromstärke mA	40,36	40,36
Durchflußgeschwindigkeit ml/sec	0,1	0,2
Konzentration des gebildeten Reagenses val/l	0,00418	0,00209
Generatorelektrolyt.	0,5 m KJ	0,5 m KJ
Endpunktsanzeige	Stärkelösung	Stärkelösung

H-Ionen und Jod ein positives Vorzeichen hat. Die Tatsache, daß bei den Titrationen mit anodischen Elektrolyseprodukten, also H-Ionen und Jod, immer mehr Substanz gefunden wird, als vorgelegt war, läßt den Schluß zu, daß die anodische Stromausbeute um einen geringen Betrag kleiner als 100% ist. Die negativen Abweichungen bei den coulometrischen Bestimmungen mit OH-Ionen können allerdings nicht auf diese Weise erklärt werden. Sie sind, — was zusätzlich auch für die positiven Fehler gilt, — auf Ungenauigkeiten in der Endpunktsanzeige und in der Strommessung zurückzuführen. Eine mathematische Erfassung dieser Abweichungen ist möglich, wenn man, wie es in der Arbeit von HÖMIG¹³ dargestellt ist, dieser Berechnung den maximal möglichen Fehler bei der Strommessung und den durch die Endpunktsanzeige bedingten maximalen Zeitfehler zugrunde legt. Es ist

$$(7) \quad \Delta Q = i \cdot \Delta t + t \cdot \Delta i.$$

Der Stromfehler wird entsprechend der Genauigkeit der Stromkonstanz des Stromstabilisators und bei Berücksichtigung des Korrekturfaktors 1,009 für das Strommeßgerät zu $\pm 0,2\%$ angenommen. Auf Grund der

bei üblichen Maßanalysen mit p_H -Meßgerät bzw. Farbindicator erzielten Genauigkeit von 0,1—0,2% wird Δt hier mit $\pm 0,2\%$ der Meßzeit t in Rechnung gesetzt. Das bedeutet also:

$$\begin{aligned}\Delta i &= \pm 0,002 \cdot i \\ \Delta t &= \pm 0,002 \cdot t.\end{aligned}$$

Durch Einsetzen in Gleichung (7) und unter Berücksichtigung von $Q = i \cdot t$ ergibt sich die Beziehung

$$(8) \quad \Delta Q = \pm i \cdot t (0,002 + 0,002) = \pm Q \cdot 0,004,$$

welche aussagt, daß, wenn die oben eingesetzten Maximalfehler ihre Richtigkeit haben, die Strommengenmessung und damit die Berechnung des elektrolytisch erzeugten Reagenses mit einem maximalen Fehler behaftet sein kann, der in der Größenordnung von $\pm 0,4\%$ liegt.

Die systematischen Abweichungen in den Meßreihen 8, 9 und 10, bei denen die Mengen vorgelegter Substanz um eine Größenordnung niedriger waren als bei den übrigen Versuchen, betragen $\pm 0,8\%$; sie sind also doppelt so groß, wie der in obiger Rechnung ermittelte maximale Fehler von $\pm 0,4\%$. Die Differenz entsteht dadurch, daß die coulometrische Titration geringer Substanzmengen infolge größerer Fehler in der Endpunktsanzeige und infolge des dadurch bedingten größeren Zeitfehlers in der Strommengenmessung ungenauer wird, obwohl in den Meßreihen 8 bis 10 die Reagenskonzentration von 0,02 auf 0,0002 val/l erniedrigt worden war.

Letztere Zusammenhänge sind aus einer Gegenüberstellung der entsprechenden Meßwerte aus den Meßreihen 4 u. 8 der Tab. 3 zu ersehen.

	Meßreihe 4	Meßreihe 8
vorgelegt:	0,998 mval	0,0998 mval
Konzentration des Reagenses	0,0208 val/l	0,00208 val/l
System. Fehler.	+ 0,25%	+ 0,8%

Auf Grund der kritischen Betrachtung der in den Tab. 2—4 aufgeführten Meßwerte und nach umseitiger Fehlerberechnung kann man abschließend sagen, daß mit der in vorstehender Arbeit entwickelten Durchfluß-Elektrolysezelle coulometrische Titrationsen mit H - und OH -Ionen und mit Jod bei einer Genauigkeit von $\pm 0,4\%$ durchgeführt werden können. Diese Genauigkeit entspricht auch den Anforderungen, die an die Zelle gestellt werden, wenn sie in industriellen Regelkreisen als Dosiervorrichtung eingesetzt wird.

Literatur.

¹ BADOZ-LAMBLING, J.: Anal. chim. Acta **7**, 585 (1952); vgl. diese Z. **143**, 285 (1954). — ² BROWN, R. A., and E. H. SWIFT: J. Amer. chem. Soc. **71**, 2717 (1949);

vgl. diese Z. **134**, 38 (1951/52). — ³ BUCK, R. P., P. S. FARRINGTON and E. H. SWIFT: *Analyt. Chemistry* **24**, 1195 (1952); vgl. diese Z. **141**, 450 (1954). — ⁴ CARSON, W. N. jr.: *Analyt. Chemistry* **25**, 226 (1953); vgl. diese Z. **141**, 451 (1954). — ⁵ CARSON, W. N. jr.: *Analyt. Chemistry* **26**, 1673 (1954). — ⁶ CARSON, W. N. jr., and R. KO: *Analyt. Chemistry* **23**, 1019 (1951); vgl. diese Z. **136**, 129 (1952). — ⁷ COOKE, W. D., and N. H. FURMAN: *Analyt. Chemistry* **23**, 896 (1950); vgl. diese Z. **134**, 39 (1951/52). — ⁸ EPSTEIN, J., H. A. SOBER and S. D. SILVER: *Analyt. Chemistry* **19**, 675 (1947); vgl. diese Z. **131**, 356 (1950). — ⁹ FARRINGTON, P. S., and E. H. SWIFT: *Analyt. Chemistry* **22**, 889 (1950); vgl. diese Z. **134**, 38 (1951/52). — ¹⁰ DE FORD, D. D., C. J. JOHNS and J. N. PITTS: *Analyt. Chemistry* **23**, 941 (1951); vgl. diese Z. **136**, 127 (1952). — ¹¹ DE FORD, D. D., J. N. PITTS and C. J. JOHNS: *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.* **36**, 612 (1950); *Analyt. Chemistry* **23**, 938 (1951); vgl. diese Z. **137**, 370 (1952/53). — ¹² FURMAN, N. H., W. D. COOKE and C. N. REILLEY: *Analyt. Chemistry* **23**, 945 (1951); vgl. diese Z. **136**, 128 (1952). — ¹³ HÖMIG, H. E.: *Diss. T. H. Aachen* 1953. — ¹⁴ LEISEY, F. A.: *Analyt. Chemistry* **26**, 1607 (1954). — ¹⁵ LINGANE, J. J.: *Electroanalytical Chemistry*, Interscience Publishers, New York, London 1953. — ¹⁶ LINGANE, J. J.: *Analyt. Chemistry* **26**, 622 (1954); vgl. diese Z. **145**, 278 (1955). — ¹⁷ MEIER, D. J., R. J. MYERS and E. H. SWIFT: *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 2340 (1949); vgl. diese Z. **134**, 38 (1951/52). — ¹⁸ MYERS, R. J., and E. H. SWIFT: *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1047 (1948); vgl. diese Z. **132**, 134 (1951). — ¹⁹ OELSEN, W., u. P. GÖBBELS: *Stahl u. Eisen* **69**, 33 (1949); vgl. diese Z. **129**, 386 (1949). — ²⁰ OELSEN, W., G. GRAUE u. H. HAASE: *Angew. Chem.* **63**, 557 (1951); vgl. diese Z. **140**, 309 (1953). — ²¹ OELSEN, W., H. HAASE u. G. GRAUE: *Angew. Chem.* **64**, 76 (1952); vgl. diese Z. **140**, 283 (1953). — ²² PITTS, J. N., D. D. DE FORD, T. W. MARTIN and E. A. SCHMALL: *Analyt. Chemistry* **26**, 628 (1954); vgl. diese Z. **145**, 276 (1955). — ²³ RAMSEY, W. J., P. S. FARRINGTON and E. H. SWIFT: *Analyt. Chemistry* **22**, 332 (1950); vgl. diese Z. **134**, 38 (1951/52). — ²⁴ SEASE, J. W., C. NIEMAN and E. H. SWIFT: *Analyt. Chemistry* **19**, 197 (1947); vgl. diese Z. **131**, 356 (1950). — ²⁵ SHAFFER, P. A. jr., A. BRIGLIO jr. and J. A. BROCKMAN: *Analyt. Chemistry* **20**, 1008 (1948); vgl. diese Z. **130**, 60 (1949/50). — ²⁶ SZECELLÉDY, L., u. Z. SOMOGYI: diese Z. **112**, 313, 323, 332, 385, 391, 395, 400 (1938). — ²⁷ TUTUNDŽIĆ, P. S.: *Anal. chim. Acta* **8**, 168 (1953); vgl. diese Z. **141**, 448 (1954). — ²⁸ WISE, E. N., P. W. GILLES and C. A. REYNOLDS jr.: *Analyt. Chemistry* **25**, 1344 (1953); vgl. diese Z. **143**, 282 (1954). — ²⁹ WISE, E. N., P. W. GILLES and C. A. REYNOLDS jr.: *Analyt. Chemistry* **26**, 779 (1954); vgl. diese Z. **145**, 276 (1955). — ³⁰ WOOSTER, W. S., P. S. FARRINGTON and E. H. SWIFT: *Analyt. Chemistry* **21**, 1457 (1949); vgl. diese Z. **132**, 134 (1951).

Prof. Dr. WALTER FUCHS, Aachen, Templergraben 55.

Bolidens Gruvaktiebolag, Skelleftehamn (Schweden).

Die Bestimmung kleiner Mengen Thallium in Blei. Extraktion des Thallium(III)-chlorids mit Isopropyläther.

Von

KAARINA LOUNAMAA.

(Eingegangen am 25. Mai 1955.)

Die Bestimmung von kleinen Gehalten von Thallium wie auch anderer Zusatzelemente in Blei wird vorteilhaft spektralanalytisch ausgeführt. Um die hergestellten Vorlegierungen für die spektralanalytischen Testproben zu kontrollieren, war aber eine chemische Bestimmung des Thalliums notwendig.

Die analytische Chemie des Thalliums ist derjenigen des Bleis sehr ähnlich und dadurch bietet auch die quantitative Trennung der beiden Metalle einige Schwierigkeiten, besonders, wenn kleine Mengen von Thallium von einem großen Überschuß des Bleis zu trennen sind. Es sind folgende Methoden für diese Trennung vorgeschlagen worden: die Fällung des Thalliums mit Thionalid¹, die Fällung als Thioharnstoffperchlorat³, oder als Thallium(I)-jodid in Anwesenheit von Thiosulfat⁷. Alle diese Methoden sind jedoch für ein größeres Verhältnis Thallium zu Blei ausgearbeitet worden, während bei der vorliegenden Arbeit nur etwa 1 Teil Thallium neben 1000 Teilen Blei zu erwarten war. Bei diesem ungünstigen Verhältnis kommt auch die Fällung des Bleis als Sulfat vor der Bestimmung des Thalliums nicht in Frage.

Bekanntlich läßt sich Thallium(III)-chlorid mit Diäthyläther extrahieren, während Bleichlorid in Äther so gut wie vollkommen unlöslich ist. Die Extraktion des Thalliums ist auch noch bei einer verhältnismäßig hohen Acidität^{2, 6} vollkommen, bei der wegen der Chloridkomplexbildung auch die Löslichkeit des Bleichlorids in der wäßrigen Phase größer ist als bei niedrigerer Salzsäurekonzentration. Schüttelt man eine solche gesättigte Bleichloridlösung mit Diäthyläther, so fällt ein beträchtlicher Teil des Bleichlorids aus. Wandte man aber anstatt des Diäthyläthers den in Wasser weniger löslichen Isopropyläther an, so war zu erwarten, daß die wäßrige Phase ohne Schaden bedeutend mehr Bleichlorid in Lösung enthalten durfte.

Die ausgeführten Versuche haben diese Annahme bestätigt. Obgleich ein kleiner Teil des Bleis beim Erkalten der Lösung vor der Extraktion ausfiel und abfiltriert wurde, waren in Anwesenheit von überschüssigem Brom keine Verluste an Thallium festzustellen. Die Bestimmung des

Thalliums wurde mikrovolumetrisch nach der von SILL u. PETERSON⁵ vorgeschlagenen Methode durchgeführt. Im Einzelnen können die Trennung und Bestimmung des Thalliums wie folgt ausgeführt werden.

Reagentien. Bromwasser: Wasser, das 100 g NH_4Cl und 10 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ je Liter enthält, wird mit Brom gesättigt. Phenollösung: 25%ige Lösung in Eisessig. Kaliumjodidlösung: 1%ige Lösung in Wasser. Stärkelösung: 2%ige Lösung in Wasser (täglich frisch bereitet).

Eine etwa 0,5—2 mg Tl enthaltende Menge des Bleis wird in Bromsalzsäure unter Erwärmen gelöst. Die Lösung, die die ganze Zeit bis zur Extraktion überschüssiges Brom enthalten soll, wird mit Salzsäure (1:1) auf etwa 100 ml verdünnt. Das bei dem Erkalten etwa ausfallende Bleichlorid wird abfiltriert und der Niederschlag mit Salzsäure (1:1) gewaschen. Die Lösung wird 3mal mit je 20 ml Isopropyläther extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden zur Trockne verdampft. Nach Zufügen von 1 ml Schwefelsäure und 2 ml Überchlorsäure wird die Lösung bis zu beginnendem Abrauchen der Schwefelsäure erwärmt. Nach dem Erkalten werden 25 ml Wasser und 25 ml Bromwasser zugegeben. Das überschüssige Brom wird mit 0,1 ml Phenollösung reduziert. Unmittelbar danach werden der kalten Lösung 3 ml Kaliumjodidlösung und 1 ml Stärkelösung zugesetzt und die Lösung mit 0,001 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung aus einer Mikrobürette bis zur Farblosigkeit titriert. Die $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung wird mit Kupfer eingestellt und gegebenenfalls mit TiNO_3 -Lösung kontrolliert.

Tabelle 1. Die mikrovolumetrische Bestimmung des Thalliums.

Titerstellung der 0,001 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung	Genommen Cu bzw. Tl, mg	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung verbraucht, ml	1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ entspricht mg Tl
Mit Elektrolytkupfer	0,560(8)	7,91	0,1031
	0,560(8)	7,90	0,1033
	0,560(8)	7,93	0,1029
	0,560(8)	7,93	0,1029
Mit TiNO_3 (mit Br zu Ti^{3+} oxydiert)	2,00(0)	19,38	0,1032
	2,00(0)	19,37	0,1033
	2,00(0)	19,40	0,1031
	2,00(0)	19,38	0,1032

Tl angewandt mg	Pb zugegeben mg	Tl nach Extraktion gefunden, mg	Ausbeute %
1,00(0)	—	1,012	101,2
2,00(0)	—	2,004	100,2
2,00(0)	—	1,992	99,6
1,00(0)	100	1,006	100,6
1,00(0)	1000	1,003	100,3
2,00(0)	100	2,016	100,8
2,00(0)	1000	1,978	98,9
2,00(0)	1000	1,986	99,3

Blei eingewogen mg	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ verbraucht, ml	Tl gefunden mg	Tl % in Blei
1,0092	9,60	0,990	0,981
1,0031	9,68	0,998	0,995
1,0279	9,82	1,012	0,985
1,0016	9,55	0,985	0,983

Wie die Resultate in Tab. 1 zeigen, ist bei der jodometrischen Titration eine Absolutgenauigkeit von etwa 0,02 ml (0,001 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung) erreichbar, was also 0,002 mg Tl entspricht. Bei sorgfältigem Arbeiten läßt sich die Trennung und Bestimmung des Thalliums mit nur wenig geringerer Genauigkeit durchführen. Somit können Mengen von 2 bis 0,5 mg Tl mit einem Fehler von etwa 0,5—1% bestimmt werden. Mit einer Einwaage von 1 g Blei ist die Bestimmung von 0,05% Tl in Blei mit einem Fehler von 1% behaftet. Von 0,1% aufwärts kann eine Genauigkeit von 0,5% erreicht werden. — Alle Fehlerangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes von 4 Bestimmungen ausgedrückt worden.

Kleinere Gehalte als 0,01% (bis zu 0,001%) dürften am vorteilhaftesten absorptiometrisch (colorimetrisch) mittels der Jod-Stärfärbung zu bestimmen sein (⁴, S. 560).

Bei der jodometrischen Bestimmung des Thalliums können bekanntlich Cu, Fe, Au (As und Sb) Störungen hervorrufen. Durch die Extraktion werden davon Cu und der größte Teil des Arsens beseitigt. In der schwach sauren Lösung machen As^{V} und Sb^{V} kein Jod frei. Das Eisen wird von Phosphat gebunden. Auf Gold ist nur in seltenen Fällen Rücksicht zu nehmen.

Zusammenfassung.

Zwecks Bestimmung kleiner Gehalte von Thallium in Blei wird das Thallium als Thallium(III)-chlorid aus der mit Brom oxydierten Lösung mittels Isopropyläther extrahiert und jodometrisch titriert. Gehalte von 0,05—1% in Blei lassen sich mit einer Genauigkeit von 2—0,5% bestimmen.

Literatur.

¹ BERG, R., u. E. S. FAHRENKAMP: diese Z. **109**, 305 (1937). — ² IRVING, H. M., and F. J. C. ROSOTTI: Analyst (London) **77**, 801 (1952); vgl. diese Z. **143**, 130 (1954). — ³ MAHR, C., u. H. OHLE: diese Z. **115**, 254 (1938/39). — ⁴ SANDELL, E. B.: Colorimetric determination of traces of metals, Interscience Publishers Inc., New York, 1950. — ⁵ SILL, C. W., and E. H. PETERSON: Analyt. Chemistry **21**, 1268 (1949); vgl. diese Z. **131**, 370 (1950). — ⁶ WADA, I., u. R. ISHII: Sci. Pap. Inst. physic. chem. Res. (Tokyo) **24**, 137 (1934); **34**, 789 (1938); ref. Handbuch der Anal. Chem. III. Teil, Bd. III, S. 643 (1942); vgl. diese Z. **102**, 444 (1935). — ⁷ WERNER, A.: Chem. News **53**, 51 (1886); ref. Handbuch der Anal. Chem. III. Teil, Bd. III, S. 646 (1942).

Frau Dipl.-Ing. KAARINA LOUNAMAA, Bolidens Gruvaktiebolag, Skelleftehamn, Schweden.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

III. Chemische Analyse organischer Stoffe.

2. Qualitative und quantitative Analyse.

Zur Bestimmung von vicinalen Glykolgruppen verwenden J. S. DIXON und D. LIPKIN¹ die Oxydation mit Perjodat, dessen Überschuß abweichend von den bekannten Verfahren² durch Messung der Absorptionsabnahme bei der Wellenlänge des Absorptionsmaximums (223 m μ) festgestellt wird. Das als Reaktionsprodukt entstehende Jodat zeigt bei 223 m μ nur eine geringe Absorption. Das Verfahren ist sehr empfindlich. Etwa 10^{-7} Mole eines Ribofuranosides (Adenosin, Guanosin, Cytidin, Uridin) können erfaßt werden. Die Ribonucleoside werden mit 10^{-4} m Perjodat rasch oxydiert. Schwer oxydierbare Stoffe (Äthylenglykol, α -Methylglucosid) läßt man in 20mal höherer Konzentration reagieren und verdünnt vor der Absorptionsmessung entsprechend. Bei Anwendung der Methode auf papierchromatographisch abgetrennte Stoffe ist eine Korrektur für die aus dem Papier herausgelösten oxydierbaren Substanzen anzubringen. — *Ausführung.* Die Untersuchung erfolgt in 1 cm-Quarzküvetten mit Hilfe des Beckman-Spektrophotometers Modell DU. Man füllt eine gemessene Menge der zu untersuchenden Lösung in die Küvette, fügt 10^{-4} m NaJO₄-Lösung in 20–100% igem Überschuß zu und mißt die Absorption in 5–10 min-Abständen, bis keine Absorptionsänderung mehr gegenüber Leerproben festzustellen ist. Dies soll in 60–90 min erreicht sein. Für die Leerproben werden 2 gleiche Quarzküvetten angewendet, von welchen die eine Probelösung + Wasser, die zweite Wasser + Perjodatlösung enthält. H. FREYTAG.

Die Bestimmung von 1,2-Propylenglykol in Äthylenglykol (bzw. in Frostschutzmitteln) verläuft nach den bisher bekanntgewordenen Verfahren³ unbefriedigend. I. M. BAUMEL⁴ entwickelte nun eine Methode, die auf der UV-Photometrie des mit Perjodat gewonnenen Acetaldehyds beruht. Polypropylenglykole und Borax, die in Frostschutzmitteln vorhanden sind, stören nicht, da nur vicinale Glykole oxydiert werden. Die Bestimmung ist binnen 1 Std beendet und die Ergebnisse sind besser hinsichtlich Genauigkeit und Reproduzierbarkeit, als die nach den zitierten Verfahren erhaltenen. — *Ausführung.* Man verdünnt etwa 5 g des Glykolgemisches auf 250 ml mit Wasser und pipettiert von dieser Lösung 50 ml in einen 1 L-Rundkolben. Nach Zugabe von 300 ml Wasser, 100 ml Perjodsäurelösung (45 g/L) und einigen Glasperlen destilliert man und sammelt das Destillat in einer 50 ml NESSLER-Röhre, die 10 ml Wasser enthält und zur Hälfte in ein Eisbad taucht. Das Kühlerablaufrohr taucht man 4 mm unter die Wasseroberfläche. Man destilliert solange, bis das NESSLER-Rohr fast bis zur Marke gefüllt ist, füllt dann zur Marke auf und mißt sofort nach Erreichen der Raumtemperatur die Absorption bei 277 m μ im UV-Spektrophotometer. H. FREYTAG.

¹ Analyt. Chemistry **26**, 1092–1093 (1954). Washington Univ. St. Louis, Mo.

² ADELBERG, E. A.: Analyt. Chemistry **25**, 1553 (1953); vgl. diese Z. **143**, 372 (1954).

³ Vgl. diese Z. **136**, 59 (1953); **139**, 442 (1953); **146**, 214 (1955).

⁴ Analyt. Chemistry **26**, 930–931 (1954). U.S. Naval Engng. Experiment Station, Annapolis, Md. (USA).

Eine neue Methode zur Bestimmung von Acrylnitril mittels der Cyanäthylierungsreaktion schlagen A. P. TERENT'EV, P. F. BUCKUS u. V. G. JAŠUNSKIJ¹ vor. Acrylnitril setzt sich mit α -Aminosäuren, z. B. Glykokoll, in alkalischer Lösung leicht zu den entsprechenden N-Cyanäthylderivaten ($\text{NaOOC} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot (\text{CH}_2)_n \cdot \text{N}$) um. Um den vollständigen Ablauf der Reaktion in dieser Richtung zu erreichen und Nebenreaktionen (z. B. die Di-Cyanäthylierung) zu vermeiden, muß man Glykokoll in der $2\frac{1}{2}$ -fachen theoretischen Menge anwenden. Der unveränderte Überschuß von Glykokoll wird nach VAN SLYKE (primärer Stickstoff) bestimmt. Die Methode hat gegenüber anderen bekannten Verfahren zur Acrylnitrilbestimmung die Vorteile, daß sie in gefärbten Lösungen brauchbar ist und in Mischungen von Acrylnitril mit Wasser und mit Äthylenecyanhydrin, das in technischer Ware als Verunreinigung auftreten kann, anwendbar ist. Die Genauigkeit beträgt etwa $\pm 1\%$.

— *Arbeitsweise.* Zu einer Einwaage, die etwa 0,1 g Acrylnitril enthalten soll, bringt man in einem mit Schliffstopfen verschließbaren Kölbchen 10 ml Glykokoll-Lösung (38 g Glykokoll mit 28 g Ätzkali und 1 g Natriumfluorid — zur Konservierung — in Wasser zu 1 Liter gelöst). Nach 1stündigem Stehen bei Zimmertemperatur neutralisiert man mit Eisessig bis zum Phenolphthaleinumschlag, setzt 1 ml 50%ige KJ-Lösung zu und füllt im Meßkolben auf 100 ml auf. Die Bestimmung des primären Stickstoffs nach VAN SLYKE erfolgt zweckmäßig in einem Mikroapparat nach P. G. IOANISIANI, bei welchem als Reaktionsgefäß mit veränderlichem Inhalt eine medizinische Spritze mit eingeschlifften Glaskolben dient. Die Spritze kann mittels eines Zweiweghahnes entweder mit einem kleinen Einfülltrichter oder mit einer Gasbürette verbunden werden. Die Gasbürette trägt oben einen Hahn und ist seitlich unterhalb der Kalibrierung über einen zweiten Hahn mit einem parallel angeordneten Steigrohr und einer Einrichtung zum Einstellen des Flüssigkeitsniveaus verbunden. Zur Bestimmung bringt man nacheinander folgende Lösungen durch den Einfülltrichter in die Spritze: 1 ml der auf 100 ml aufgefüllten Analysenlösung, 1 ml Wasser (zum Ausspülen des Trichters), 5 ml essigsäure Nitritlösung (4 ml 30%ige NaNO_2 -Lösung, 1 ml Eisessig, mit Wasser auf 10 ml verdünnt). In den Trichter bringt man hierauf 3 ml 30%ige Natronlauge. Nach 3 min langem Schütteln der Spritze läßt man zuerst die Natronlauge und danach in kleinen Portionen 4–5 ml alkalische Permanganatlösung (50 g KMnO_4 und 25 g NaOH auf 1 l Wasser) in die Spritze einlaufen. Man schüttelt wieder zur Absorption der Stickoxyde. Nach kurzem Warten, bis sich der MnO_2 -Niederschlag etwas abgesetzt hat, läßt man durch den Trichter 1–2 ml Wasser einfließen und drückt hierauf das Gas in die Meßbürette.

W. ANTONI.

Ein Analysenschema für gewöhnliche organische Säuren, die nur C, H und O enthalten, stellten R. T. WENDLAND und D. H. WHEELER² zusammen. Klasse I umfaßt die flüssigen Säuren, bei 30°C oder tiefer schmelzend. Die Unterteilung berücksichtigt (Gruppe A–D) Geruch, Geschmack, Mischbarkeit mit Wasser, Seifenbildung mit Alkali, Verhalten gegen Permanganat, Bestimmung des Neutralisationsäquivalents. In Klasse II gehören Säuren mit einem Schmelzpunkt über 30°C , mit den Gruppen F. 80°C (A), F. 90 – 189°C (B), F. 190°C und mehr (C). Die Klasse III umfaßt ebenfalls Säuren mit F. $> 30^\circ\text{C}$, die Gruppen aber sind gekennzeichnet durch die Reaktionsfähigkeit gegenüber Kaliumpermanganat und Brom, Mischbarkeit mit Wasser und Natur der alkalischen Lösungen. Die IV. Klasse endlich ist den Phenolsäuren vorbehalten, die mit Eisen(III)-chloridlösung Farbreaktionen liefern und oberhalb 150°C schmelzen. Im Vordergrund der Arbeit

¹ Ž. anal. Chim. **9**, 162–165 (1954) [Russisch]. Staatl. Univ. Moskau.

² Analyt. Chemistry **26**, 1469–1474 (1954). State College, Farg, N. D. und General Mills, Inc., Minneapolis, Minn. (USA).

stehen die Identifizierungs- und Isolierungsmethoden der ungesättigten Ölsäuren (C_{18}) der praktisch besonders wichtigen trocknenden Öle, für die die Kennzahlen und die Absorptionen im UV- und UR-Licht neu bestimmt wurden und die Trennungs-, Nachweis- und Bestimmungsmethoden ausführlich beschrieben werden. Die Einzelheiten der Arbeit, die auch die in der Literatur niedergelegten Verfahren und Ergebnisse systematisch vereinigt und benutzt, sind dem Original zu entnehmen.

H. FREYTAG.

Über die Oxydation organischer Säuren mit überschüssigem Cer(IV)-sulfat in stark schwefelsaurer Lösung zu Kohlendioxyd berichten N. N. SHARMA und R. C. MEHROTRA¹. Das Verfahren kann zur *maßanalytischen Bestimmung von Ameisen-, Glykol-, Äpfel-, Malon- und Weinsäure* dienen. — *Ausführung.* Man mischt 15 ml 0,1 n Cer(IV)-sulfatlösung mit 30 ml konz. Schwefelsäure, gibt nach dem Abkühlen die Lösung der *Ameisensäure* dazu, erhitzt auf dem Wasserbad 1 Std am Rückflußkühler, verdünnt dann auf 200 ml und titriert mit Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung gegen N-Phenylanthranilsäure als Indicator zurück. — Zur Bestimmung der *Wein-, Malon-, Äpfel- und Glykolsäure* versetzt man die Lösung dieser Säuren mit einem Überschuß von Cer(IV)-sulfatlösung in verdünnter Schwefelsäure, und erhitzt 10—15 min am Rückflußkühler zum Sieden. Dann gibt man vorsichtig das doppelte Volumen an konz. Schwefelsäure hinzu, erhitzt weiter 45—50 min unter Rückfluß und titriert ebenfalls mit Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung zurück. G. DENK.

Nach einer weiteren Mitteilung von N. N. SHARMA und R. C. MEHROTRA² eignet sich das Verfahren auch zur Bestimmung von *Malein-, Fumar-, Benzoe-, Salicyl- und Phthalsäure*. Die Lösung muß 50 oder mehr Vol % konz. Schwefelsäure enthalten. Essig- und Bernsteinsäure werden auch bei sehr hoher Schwefelsäurekonzentration nicht oxydiert. Die Genauigkeiten betragen $\pm 0,1\%$. K. BRODERSEN.

Bei der Papierchromatographie organischer Säuren, vornehmlich der *Glucon- und Glucuronsäuren* sowie *verwandter Oxysäuren*, beobachtet man eine deutliche Neigung zur Ausbildung geschwänzter Tüpfel. Nach F. SMITH und D. SPRIESTERSBACH³ läßt sich dieser Übelstand durch Anwendung eines mit *Alginsäure* behandelten Whatman-Papieres Nr. 1 vermeiden. Man taucht das Papier in eine 1%ige wäßrige *Ammoniumalginatlösung*, entfernt deren Überschuß und taucht dann das Papier in n Salzsäure, um die Alginsäure niederzuschlagen. Das Papier wäscht man mit Äthanol oder Wasser frei von Salzsäure und trocknet es an der Luft. Säure-Basenindikatoren zum Nachweis der Säuretüpfel lassen sich wegen der Acidität dieses Papiers nicht verwenden. Hingegen stört die Alginsäure nicht beim Sichtbarmachen der Tüpfel von Uronsäuren und gewissen Oxysäuren, wie *Citronen-, Wein- und Äpfelsäure* mit dem ammoniakalischen Silbernitratreagens. Die Uronsäuren sind nachweisbar mit einem Sprühreagens, das Anilin, p-Anisidin oder andere aromatische Amine enthält. Mono- und Dicarbonsäuren, die so nicht sichtbar gemacht werden können, lassen sich aber erkennen, wenn das Papier zuerst mit einer 5%igen Aminlösung in 50 Vol %igem Alkohol, der 5% Natriumnitrit enthält, und bald danach mit einer alkalischen Lösung eines Phenols (z. B. β -Naphthol) oder eines aromatischenamins (z. B. β -Naphthylamin oder dessen 6,8-Disulfonsäure) besprüht. Die Säuretüpfel erscheinen nach dem Trocknen nicht fluoreszierend dunkel auf fluoreszierendem Untergrund. Besonders deutlich ist dies, wenn ein Amin als Kupplungspartner benutzt wird. Auch eine Braunfärbung der Säuretüpfel

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 417—427 (1954). Univ. Allahabad (Indien).

² Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 507—511 (1954).

³ Nature (London) **174**, 466—467 (1954). Univ. St. Paul, Minnesota (USA).

ist nach den Verff. möglich. Man besprüht das Chromatogramm mit einer 50 Vol-%igen alkoholischen Lösung, die 5% Anilin oder p-Anisidin und 5% eines reduzierenden Zuckers (vorzugsweise D-Xylose) enthält. Nach kurzem Erhitzen auf 125–130° C erscheinen die Säuretüpfel braun gefärbt. H. FREYTAG.

Fettsäuren. Über die papierchromatische Trennung von gesättigten Fettsäuren von C₄ bis C₁₈ berichten A. HOLASEK und K. WINSAUER¹. Verff. arbeiten nach der aufsteigenden Methode mit Filtrierpapier Schleicher und Schüll Nr. 2043 b, das mit Aluminiumlösung imprägniert wurde. Als trennscharfes Lösungsmittel erwies sich dabei eine Mischung von Tetrachlorkohlenstoff, Methanol und konz. Ammoniak. Zur Sichtbarmachung der Fettsäuren werden die Chromatogramme mit einer Rhodamin B-Lösung besprüht und unterm UV-Licht betrachtet. — *Arbeitsvorschrift.* Nach Auftragen des petrolätherischen Fettsäuregemisches auf das 40 cm hohe imprägnierte Papier (Behandeln des Papiers mit einer 0,5%igen Lösung von K Al(SO₄)₂ · 12H₂O und anschließendes Trocknen bei 60–100° C) wird das Chromatogramm 10 min an der Luft getrocknet. Nachdem das Papier 2 Std in dem mit dem Lösungsmitteldampf gesättigten Zylinder belassen wurde, taucht man das Chromatogramm in das Lösungsmittel (Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-konz. Ammoniak [81 : 18 : 1]; Tetrachlorkohlenstoff und getrocknetes Methanol werden vorher über eine Kolonne destilliert) 13–15 Std ein, trocknet bei 60–70° C und besprüht mit einer 0,1%igen Lösung von Rhodamin B in 0,05 n Salzsäure. Anschließend wird nochmals getrocknet; die Fettsäuren erscheinen im UV-Licht als hellrote Flecken auf violetter Unterlage. In einer Tabelle werden die dabei gefundenen R_f-Werte angegeben. Die Erfassungsgrenze soll 10–100 µg betragen. Bei zu niedriger Konzentration der Fettsäuren wird eine Harnstofffällung² zur Isolierung empfohlen. D. HEILIGMANN.

Über die Bedingungen, unter denen die Fällung mit Harnstoff zur Isolierung und Bestimmung von höheren Fettsäuren geeignet ist, haben A. HOLASEK und F. SADEK³ Untersuchungen angestellt⁴. Die besten Ergebnisse wurden bei folgendem Vorgehen erzielt. Das Gemisch der höheren Fettsäuren wird in 86%igem Alkohol gelöst und mit so viel Harnstoff versetzt, daß nach der Fällung der Addukte die überstehende Flüssigkeit an Harnstoff gesättigt ist. Bei Säuremengen unter 1% sind 16 g Harnstoff für 100 ml ausreichend. Man erwärmt, bis sich der Harnstoff gelöst hat, kühlt unter der Wasserleitung ab, bis ein Niederschlag erscheint und läßt über Nacht bei 2° C stehen. Danach wird abgenutscht, der Niederschlag ausgepreßt, in warmem Alkohol gelöst und mit 0,1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert. Bei dieser Art des Vorgehens werden Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure fast quantitativ gefällt, wobei eine kleine, aber immer gleiche, d. h. von der Konzentration unabhängige Menge an diesen Säuren in Lösung bleibt. Niedere Fettsäuren werden mit abnehmender Molekülgröße schlechter erfaßt. In Gegenwart von Palmitinsäure werden sie aber teilweise mitgerissen. L. ACKER.

R. M. IKEDA, A. D. WEBB und R. E. KEPNER⁵ beschreiben die chromatographische Trennung von Fettsäuren in Form ihrer p-Phenyl-azophenyl (PAP)-Ester. Diese intensiv orange gefärbten Verbindungen werden nach dem Verfahren von

¹ Mh. Chem. (Wien) **85**, 796–801 (1954). Univ. Graz.

² HOLASEK, A., und M. G. IBRAHIM: Fette u. Seifen **55**, 601 (1953); vgl. diese Z. **145**, 127 (1955).

³ Fette u. Seifen **56**, 604 (1954). Univ. Graz.

⁴ Vgl. HOLASEK, A., und M. G. IBRAHIM, Fette u. Seifen **55**, 601 (1953); vgl. diese Z. **145**, 127 (1955).

⁵ Analyt. Chemistry **26**, 1228–1229 (1954). Univ. Davis, Calif. (USA).

R. L. SHRINER und R. C. FUSON¹ durch Einwirkung von PAP-bromid (dargestellt nach A. ANGELI²) auf die Fettsäuren gewonnen. Als Adsorptionsmittel dient Kieselsäure (MALLINCKRODT, analytical reagent, Nr. 2847, 100 mesh), die durch 8 min langes Aufbewahren über Phosphorpentoxyd im Hochvacuum aktiviert wurde. Zur Entwicklung der Chromatogramme wird ein Gemisch von thiophen-freiem Benzol und Skellysolve B benützt. Eine Röhre (8 × 250 mm) wird mit einer Aufschlämmung der aktivierten Kieselsäure in der doppelten Menge Lösungsmittel-gemisch gefüllt und Luftblasen werden mit Hilfe eines langen Drahtes entfernt. Dann wird der Überschuß des Lösungsmittels durch Anwendung eines Druckes von 8–10 pounds entfernt. Die in möglichst wenig Benzol-Skellysolve B-Gemisch gelösten Fettsäure-PAP-Ester werden auf die Säule gebracht und unter einem Druck von 5–8 pounds in bekannter Weise entwickelt, bis die durch Bildung orangefarbener Banden erkennbare Trennung der Ester durchgeführt ist. Das Original enthält Tabellen mit den Konstanten der PAP-Ester von Essigsäure, Propionsäure, Butter- und Isobuttersäure, Baldriansäure, Capronsäure, Caprylsäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure. K. SÖLLNER.

S. BERGSTRÖM und K. PÄÄBO³ geben eine Methode zur Trennung von gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren durch Oxydation zu Oxysäuren bekannt. Als Oxydationsmittel ist Perameisensäure in Äthylformiat am besten geeignet. In dem erhaltenen Reaktionsgemisch überführt man die Fett- und Oxyfettsäuren mit Diazomethan in die Methylester, die durch Chromatographie an Kieselsäure voneinander getrennt werden. Es verbleiben in einem binären Gemisch etwa 2% einer Säure in der anderen als Verunreinigung. Für mehrfach ungesättigte Säuren (z. B. Linolsäure) ist das Verfahren nicht geeignet. — *Ausführung.* Die acetonsche Lösung von 20 mg *Palmitin-* und 20 mg *Ölsäure* bringt man im Kolben zur Trockne, fügt 1,5 ml Äthylformiat, 1 ml 99%ige Ameisensäure und 0,12 ml 30 Gew.-%iges Wasserstoffperoxyd zu, beläßt 3 Std bei 50° C und dampft dann im Vakuum zur Trockne ein. Nach Zugabe von je 2 ml Toluol dampft man noch 2 mal zur Trockne. Man löst den Rückstand in einigen Tropfen Methanol auf und versetzt mit einem Überschuß von Diazomethan in Äther. Die Lösungsmittel verdampft man erneut im Vakuum. Die chromatographische Trennung der Ester erfolgt auf einer Säule von Kieselsäure (Baker, London), die durch 24stündiges Erhitzen auf 120° C aktiviert wurde, und von der 2 g mit 1 g Hyflosupercel gemischt, in Methylenchlorid eingerührt und auf ein Sandbett in das Chromatographierrohr (20 mm ϕ) eingefüllt werden. Das Gemisch der Fettsäureester löst man in einigen ml Methylenchlorid und gibt die Lösung auf die Säule. Die unsubstituierten Ester eluiert man mit insgesamt 100 ml Methylenchlorid. Die Dioxyester eluiert man hierauf mit Methylenchlorid, dem 0,75 Vol % Methanol zugesetzt sind.

Mit der papierchromatographischen Trennung höherer Fettsäuren beschäftigten sich systematisch V. KOBRLE und R. ZAHRADNÍK⁴. Sie erreichten auf mit Triglyceriden imprägniertem Papier eine Trennung der Fettsäuren mit 10–22 Kohlenstoffatomen und konnten eine lineare Abhängigkeit der R_f -Werte von der Kohlenstoffzahl nachweisen, die eine weitgehende Identifizierung einzelner Fettsäuren auch im biologischen Material ermöglicht. — *Ausführung.* 12/40 cm-Streifen des Filtrier-

¹ „Systematic Identification of Organic Compounds“, S. 137. New York, John Wiley and Sons, 1948.

² Atti accad. naz. Lincei **24**, Sec. I, 1185 (1915).

³ Acta chem. scand. (Kopenhagen) **8**, 1486–1487 (1954). Univ. Lund (Schweden).

⁴ Chem. Listy **48**, 1189–1196 (1954) [Tschechisch]. Inst. f. Arbeitshygiene u. Berufskrankheiten, Prag.

papiers (z. B. Whatman Nr. 1 oder 4, Sch. & Sch. 2043 b) wurden zur Imprägnierung durch eine 12%ige Lösung eines Pflanzenöls in Toluol gezogen und dann einige Minuten an der Luft getrocknet. Die Art des Öles beeinflusst die Ergebnisse nicht sehr. Verwendet wurden Olivenöl, Mohnöl, Sonnenblumenöl oder Sesamöl. Als bewegliche Phase dient am besten 75%iger Äthylalkohol. Vor Gebrauch wird dieses Lösungsmittel mit dem als stationäre Phase verwendeten, gereinigten Öl gesättigt. Von den verschiedenen chromatographischen Arbeitsweisen hatte das absteigende Verfahren die besten Ergebnisse. Zum Sichtbarmachen der Tüpfel wurde das trockene Chromatogramm 1 min lang durch eine 5%ige wäßrige Silbernitrat-Lösung gezogen, dann wenigstens 3mal mit destilliertem Wasser ausgewaschen und schließlich 5–10 min bei 150°C getrocknet. Dabei färben sich die Fettsäureflecken meist intensiv braun auf weißem Grund. Nach 10–14 Tagen wird die Braunfärbung der Flecken schwächer und verschwindet später ganz. Durch Besprühen der Chromatogramme mit acetonischer Dimethylaminobenzylidenrhodaninlösung oder mit Natriumsulfidlösung können die Tüpfel wieder angefärbt werden.

P. SAVARY¹ berichtet über die *papierchromatographische Trennung der höheren Fettsäuren* auf unbehandeltem und auf siliconisiertem Papier. — *Chromatographie auf unbehandeltem Papier.* Die Fettsäuren in Cyclohexanlösung werden auf die Startlinie in Tüpfeln von höchstens 0,8 cm $\varnothing$ aufgetragen. Nachdem sich das Papier mit dem Lösungsmitteldampf gesättigt hat, führt man die Chromatographie nach dem absteigenden Verfahren wie üblich durch. Die Front des Lösungsmittels legt in 4–6 Std 25–30 cm zurück. Zur Kenntlichmachung der Tüpfel auf den getrockneten Papierstreifen werden drei Arbeitsweisen empfohlen: Man taucht die gründlich gewaschenen Streifen in eine 0,1%ige Lösung von Kaliumeisen(II)-cyanid. Sobald die *braunen* Flecken auf *rötlichem Grund* erscheinen, wäscht man mit viel Wasser. Das Verfahren ist nur für Whatmanpapier Nr. 1, aber nicht für Sch. & Sch.-Papier anwendbar. Streifen des letzten, zuerst mit 1%iger Cu(II)-acetatlösung gesprühten und gewaschenen Papiers taucht man nach dem Trocknen bei 60°C und Auskühlen in eine 0,0001 n Kaliumpermanganatlösung, wodurch es sich leicht bräunt, während die Fettsäureflecken infolge Kupferseifenbildung *hellblau* gefärbt sind. Für alle Papiere eignet sich die Behandlung mit 0,1%iger Rhodamin B-Lösung nach dem Tauchen in Kupferacetatlösung. Nach dem Trocknen zeigen die Tüpfel violette Fluoreszenz auf rotem Grund. — Als Lösungsmittel dienen Methanol-Wassergemische in den Volumverhältnissen 50:50 bis 90:10. Je nach diesen Mischungsverhältnissen und auch etwas abhängig von dem verwendeten Papier gelingen z. B. Trennungen von *Caprin-, Laurin- und Myristinsäure, Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure, Laurin- und Ölsäure, Laurin-, Myristin- und Stearinsäure* sowie *Palmitin- und Ölsäure*. Es sind noch 11 μ g Ölsäure neben 400 μ g Palmitinsäure erfaßbar. Umgekehrt ist aber Palmitinsäure neben Ölsäureüberschuß nicht nachweisbar. Die angeführten Trennungen sind aber recht schwierig auszuführen. Man muß bei unbehandeltem Papier stets befürchten, daß die ungesättigten Säuren gewisse gesättigte stören. — *Chromatographie auf siliconisiertem Papier.* Der Verf. verwendet *Rhodorsil* 240 (Etabl. Rhône-Poulenc). Hiervon löst man 1 Vol.-T. in 100 Vol.-T. wasserfreiem Cyclohexan. Man taucht das Papier 10 sec lang ein in eine Lösung von *Rhodorsil* in Cyclohexan (1:100) und trocknet hierauf in senkrechter Lage an der Luft. Das Fettsäuregemisch (20–50 μ g entsprechend) bringt man in Cyclohexan gelöst an die Startlinie und verfährt weiter wie beschrieben unter Verwendung von Aceton-Wasser-Cyclohexan- (oder n-Hexan-) Gemischen als Lösungsmittel. Nach einer Lauflänge von 25–35 cm trocknet man das Papier an der Luft und entwickelt mit Kupfer(II)-acetat und

¹ Bull. Soc. Chim. biol. **36**, 927–932 (1954). Fac. Sci., Marseille (Frankreich).

Rhodamin B oder Acridinorange. Die Fettsäurettüpfel erscheinen klargrün auf Rosa, im filtrierten UV violett auf rotem Grunde. *Laurin-, Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure* lassen sich auf siliconisiertem Papier in einem Gange befriedigend trennen. Ebenso sind *Ölsäure* und *Linolsäure* trennbar. Ernsthafte Störungen treten auf zwischen Öl- und Palmitinsäure, Linol- und Myristinsäure. Zur quantitativen Bestimmung der Fettsäuren ist das papierchromatographische Verfahren ungeeignet. Die R_f -Werte sind den Tabellen des Originals zu entnehmen.

Die chromatographische Trennung der höheren ungesättigten Fettsäuren kann nach J. MORETTI und J. POLONOVSKI¹ dadurch verbessert werden, daß man die Säuren zunächst in ihre Bromadditionsprodukte überführt. Die Versuche wurden mit *Dibromstearinsäure*, *Tetrabromstearinsäure* und *Hexabromstearinsäure* ausgeführt, die aus alkoholisch verseiftem Leinöl durch Bromierung mit flüssigem Brom bei -10°C hergestellt und durch fraktionierte Kristallisation gereinigt wurden. Das Prinzip der Trennungsmethode beruht auf der unterschiedlichen Löslichkeit der bromierten Stearinsäuren in verschiedenen Lösungsmitteln. Als Adsorptionsmittel zur Säulenchromatographie erwies sich am besten geeignet ein Gemisch von gleichen Gewichtsteilen Celite (Kieselsäure, Filterhilfe) und Magnesiumsilicat. Setzt man 1 g eines Gemisches von Stearinsäure und ihrer bromierten Derivate auf die Säule, so läßt es sich quantitativ ausgezeichnet trennen. Man eluiert mit Petroläther zuerst die Dibromstearinsäure; hierauf folgt in den nächsten Fraktionen die Stearinsäure; anschließend eluiert man mit Äthyläther die Tetrabromstearinsäure und schließlich mit Dichloräthan bei 50°C oder mit Trichloräthylen + 5–10% Essigsäure bei Raumtemperatur die Hexabromstearinsäure. Der Fortschritt der Trennungen wird durch Siedepunktbestimmung in den Eluatfraktionen verfolgt. — Die Trennungen können auch auf Papier durchgeführt werden, indem man nacheinander mit den oben angegebenen Lösungsmitteln aufsteigend chromatographiert. Das in Dichloräthylen gelöste Gemisch der bromierten Stearinsäuren startet man 1 cm über der Lösungsmitteloberfläche. Die Flecken werden sichtbar gemacht, indem man die Papierstreifen mit Methylrotlösung behandelt und dann mit Wasser abspült. Die Fettsäureflecken erscheinen lebhaft rot auf rosafarbigem Untergrund. H. FREYTAG.

Die Wanderwege höherer, geradkettiger Fettsäuren mit C_{10} , C_{12} . . . bis C_{18} bei der *Papierelektrophorese* in Ammoniaklösung mit 6 V/cm betragen nach A. J. G. BARNETT und D. K. SMITH² 4,5, 1,5, 0,33, 0,07 und 0,0017 cm/Std und sind durch elektroosmotische und adsorptive Kräfte bedingt. Werden diese berücksichtigt, dann erhält man Ionenbeweglichkeiten von 42,1, 22,5, 16,4 und $13,9 \cdot 10^{-5}$ cm/sec/V/cm für C_{10} bis C_{16} und für C_{18} den geschätzten Wert $13,0 \cdot 10^{-5}$. Die Beweglichkeitsunterschiede reichen aus, um *Laurin- und Myristinsäure in Ölsäure* zu bestimmen. Ölsäure, Elaidinsäure und Stearinsäure können jedoch nicht mehr auf diese Weise getrennt werden. K. CRUSE.

Die chromatographische Bestimmung von *Ölsäure (OS)* und *Linolsäure (LS)* in Gegenwart gesättigter, geradkettiger Fettsäuren führen W. MARY, L. CROMBIE, R. COMBER und S. G. BOATMAN³ unter Anwendung der von G. A. HOWARD und A. J. P. MARTIN⁴ entwickelten und von verschiedenen Autoren modifizierten Umkehrphasen-Chromatographie (reversed-phase chromatographic procedure) durch. Hierbei erfolgt die Eluierung der Säuren durch Aceton-Wassergemische, die zwischen 45% und 90% Aceton enthalten. In einer Silicagel-Kolonnen mit den Dimensionen

¹ Bull. Soc. chim. France 1954, 935–936. Fac. Méd., Paris.

² Nature (London) 174, 659–660 (1954). Univ. Aberdeen (Schottland).

³ Nature (London) 174, 181–182 (1954). Univ. Southampton (England).

⁴ Biochemic. J. 46, 532 (1950).

1,3/30 cm können auf diese Weise OS und LS getrennt werden. Sind jedoch gesättigte Säuren zugegen, so werden diese teilweise zusammen mit den ungesättigten Säuren eluiert. Nach der Titration der Gesamtsäure muß man in diesem Falle die ungesättigte Säure mit Permanganat oxydieren und die Oxydationsprodukte ermitteln. Die Arbeit enthält keine experimentellen Angaben; Verff. stellen die Veröffentlichung der Analysetechnik in Aussicht.

K. SÖLLNER.

Die Bestimmung von Ameisensäure kann nach A. S. PERLIN¹ auf Grund der Oxydation mit Bleitetraacetat erfolgen, die durch Kaliumacetat beschleunigt wird. Man arbeitet entweder maßanalytisch, indem man das unverbrauchte Bleitetraacetat titriert, oder gasvolumetrisch bzw. gravimetrisch, indem man die entwickelte Kohlendioxidmenge mißt. Im Gegensatz zu den Methoden mit Quecksilber(II)-chlorid² ist Formaldehyd ohne Einfluß und andere Säuren, wie Essigsäure, Propionsäure und Bernsteinsäure, stören nicht. Die neue Methode ist daher auch auf Gärlösungen anwendbar. — *Ausführung. Maßanalytische Bestimmung.* 5 ml einer Lösung von 1—5 mg Ameisensäure in 80%iger Essigsäure fügt man zu 5 ml Oxydationslösung, die je 100 mg Bleitetraacetat und Kaliumacetat in Eisessig gelöst enthält. Eine Blindprobe bereitet man gleichzeitig aus 5 ml 80%iger Essigsäure und 5 ml der gleichen Oxydationslösung. Nach 20—30 min langem Stehen bei 25—27° C fügt man den Lösungen je 10 ml einer Lösung von 10 g Kaliumjodid und 50 g Natriumacetat in 100 ml Wasser zu, löst das etwa ausgefallene Bleijodid durch Zugabe von Wasser und titriert das Jod mit 0,02 n Natriumthiosulfatlösung gegen Stärke. — *Gasvolumetrische Bestimmung.* Die Bestimmung ist mit einem üblichen WARBURG'schen Respirometer von konstantem Volumen möglich. 1 ml der Oxydationslösung (10 mg Bleitetraacetat und 10 mg Kaliumacetat in 90%iger Essigsäure) legt man im Kolben vor und bringt 0,2 ml der Ameisensäurelösung (0,1—0,5 mg in 90%iger Essigsäure) in den Seitenarm des Geräts. Gleichzeitig setzt man eine Blindprobe an. Man läßt 10—15 min zum Temperatúrausgleich stehen, vermischt die Lösungen und liest nach Erreichen konstanten Volumens (20—25 min) die Druckänderung ab. Das Gerät eicht man mit Lösungen von bekanntem Ameisensäuregehalt oder auch mit Lösungen von Glycerin oder Erythrit, die bekannte Mengen Ameisensäure bei Oxydation mit Bleitetraacetat liefern. — *Wägung der CO₂-Menge.* Man benutzt eine übliche Gasentwicklungsapparatur und leitet die Gase durch eine Trockeneisfalle und eine Waschflasche mit konz. Schwefelsäure in das gewogene Ascaritrohr. 10 ml einer Lösung von z. B. 21,5 mg Ameisensäure in 90%iger Essigsäure gibt man in das Reaktionsgefäß, schließt das Gaszuleitungsrohr und läßt 25 ml 90%ige Essigsäure aus dem Scheidetrichter zufließen, die 1 g Bleitetraacetat und 1 g Kaliumacetat gelöst enthält. Nach 30—40 min (bei 27° C Raumtemperatur) verdrängt man das Kohlendioxid mit durchgeleitetem Stickstoff in das Absorptionsrohr. Ebenso verfährt man bei der Blindprobe. H. FREYTAG.

Zur Bestimmung von Acetaten und der Acetylgruppe geben D. KÖSZEGI und J. SIMONYI³ ein jodometrisches Verfahren an. Aus Acetaten setzen sie die Essigsäure mit Phosphorsäure frei und destillieren die Essigsäure aus dem ein wenig abgeänderten Apparat von F. KÖGL und J. J. POSTOWSKY⁴ mit Wasserdampf in einen, eine Bariumcarbonat-Suspension enthaltenden Meßkolben. Eine der Essigsäure äqui-

¹ Analyt. Chemistry **26**, 1053—1054 (1954). National Res. Lab., Ottawa (Canada).

² AHLEN, L., u. O. SAMUELSON; Analyt. Chemistry **25**, 1263 (1953); F. AUERBACH, u. H. ZEGLIN; Z. physik. Chem. **103**, 161 (1923).

³ Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 231—235 (1954). [Ungarisch m. dtsch. Zus.fass.] Acta chim. Acad. Sci. hung. **5**, 33—42 (1954). Medizin. Univ., Szeged (Ungarn).

⁴ Liebigs Ann. Chem. **440**, 19, 34 (1924).

valente Menge Barium geht dabei in Lösung. Nach beendeter Destillation wird die Suspension aufgeköcht, rasch abgekühlt, aufgefüllt, filtriert, die Hälfte des Filtrats schwach alkalisch gemacht und mit einer bekannten Menge 0,05 n Kaliumdichromatlösung einige Minuten gekocht. Die abgekühlte Lösung wird aufgefüllt, filtriert, ein Teil des Filtrats mit Salzsäure angesäuert, Kaliumjodid zugegeben und das ausgeschiedene Jod mit Natriumthiosulfat gemessen. Der Acetylgehalt einer Substanz wird nach entsprechender Verseifung in derselben Weise bestimmt. Die Methode ist genauer als die acidimetrische.

J. PLANK.

Bei der Bestimmung von Milchsäure mit Cer(IV)-sulfat nach J. J. GORDON und J. H. QUASTEL¹ untersuchen S. R. ELSDEN und Q. H. GIBSON² den Einwand von C. LONG³, daß die Reaktion nicht beim Acetaldehyd stehen bleibe, sondern daß dieser zum Teil bis zur Essigsäure weiteroxydiert werde. Von maßgebendem Einfluß auf das Ergebnis sind die Konzentration der Cer(IV)-sulfatlösung, die Reaktionstemperatur und die Durchlüftung der Lösung, um den entstandenen Aldehyd dem Einfluß des überschüssigen Oxydationsmittels möglichst rasch zu entziehen. Die Verf. erhielten die besten Ergebnisse, wenn sie von einer Anfangskonzentration an Cer(IV)-sulfat von 0,05 n ausgingen, bei einer Temperatur von 50–60° C arbeiteten und einen Luftstrom von 500–600 ml/min während mindestens 45 min durch die Reaktionslösung hindurchschickten. Der Acetaldehyd wurde dabei wie üblich in Natriumhydrogensulfatlösung aufgefangen und jodometrisch bestimmt. Bei Einwaagen von Zinklactat als Testsubstanz wurden so 95–99% der angewandten Milchsäure wiedergefunden. Als vorteilhafter, weil die Aldehydausbeute noch besser ist (97,5–99%) und die Reaktion wesentlich schneller verläuft, empfehlen aber die Verf. eine neue, von ihnen ausgearbeitete Abänderung der Methode, bei welcher der Aldehyd statt mit Luft mit Wasserdampf von 100° C ausgetrieben wird und die Cer(IV)-sulfatlösung nur in dem Maße, wie sie verbraucht (entfärbt) wird, zu der siedenden Analysenlösung hinzutropft. — *Ausführung.* In das Reaktionskolben füllt man die auf Milchsäure zu untersuchende Lösung (höchstens 5 ml), versetzt sie mit 10 n Schwefelsäure bis zu einer Säurekonzentration von 1 n und verschließt mit einem Schliffstopfen, welcher mit einem Tropftrichter für die Cer(IV)-sulfatlösung, einem Dampfeinleitungsrohr und einem Dampfableitungsrohr mit Tropfenfänger und absteigendem Intensivkühler versehen ist. Das Kühlerende taucht in eine Vorlage mit 2 ml 0,5%iger Natriumhydrogensulfatlösung. Man erhitzt mit einem Mikrobrenner den Inhalt des Reaktionskolbens zum Sieden und leitet einen so lebhaften Dampfstrom hindurch, daß in 1 min 15–20 ml Destillat entstehen. Gleichzeitig laßt man 0,05 n Cer(IV)-sulfatlösung dazutropfen, und zwar so, daß der nächste Tropfen erst dann fällt, wenn der vorhergehende bereits entfärbt ist. Auf diese Weise vermeidet man einen schädlichen Überschuß an Ce^{4+} , solange noch Milchsäure vorhanden ist. Schließlich bleibt eine Gelbfärbung bestehen und zeigt das Ende der Reaktion an; man gibt dann noch weitere bis auf insgesamt 5 ml Cer(IV)-sulfatlösung hinzu. Wenn 15 ml Destillat übergegangen sind, senkt man die Vorlage und destilliert weiter bis zum Gesamtvolumen von 20 ml. Die Oxydation der Milchsäure und die Destillation des Acetaldehyds erfordern also nur etwa 1 min. Das Destillat kühlt man in Eiswasser auf 4–5° C, zerlegt die Aldehyd-Hydrogensulfatverbindung mit festem Natriumhydrogencarbonat und führt die Bestimmung in bekannter Weise jodometrisch zu Ende. — Unter den angewandten Reaktionsbedingungen entwickeln sich auch aus Glucose destillierbare Carbonylverbindungen. Man muß daher zuckerhaltige Analysen-

¹ Biochemic. J. **33**, 1332 (1939).

² Biochemic. J. **58**, 154–158 (1954). Univ. Sheffield (England).

³ Biochemic. J. **40**, 27 (1946).

lösungen wie bekannt mit Kupfersulfat und Calciumhydroxyd entzuckern. Hierbei wird gleichzeitig störendes Eiweiß mitentfernt. Aus Äthylalkohol, Citronensäure und Äpfelsäure bilden sich keine Carbonylverbindungen. F. NEUMANN.

Zur polarographischen Bestimmung von Oxalsäure in kleinsten Mengen (10 $\mu\text{g/ml}$) neben überschüssigem Ammoniumnitrat (1 m) haben G. F. REYNOLDS und R. C. SMART¹ folgende Methode vorgeschlagen: Eine Probenmenge, die 50 bis 125 μg Oxalsäure enthält, wird mit 0,01 n Ammoniaklösung (Methylorange als Indicator) bis zum Umschlag nach Gelb versetzt, dann werden 0,1 ml einer Europiumlösung zugefügt, die 25 μg Europium je Milliliter enthält und aus 14,5 mg Europiumoxyd (spektralrein) in 2 ml 10 m Salzsäure hergestellt und mit Wasser zu 10 ml ergänzt ist. Nach dem Auffüllen auf 5 ml wird die Probelösung 15 min bei 25° C belassen, dann wird ein aliquoter Teil 10 min mit Wasserstoff behandelt und zwischen —0,4 und —1,1 V gegen die Bodenanode polarographiert ($m^{2/3} t^{1/6} = 2,71$). Die Oxalsäuremenge kann dann aus der Höhe der Europiumstufe bei —0,77 V bestimmt werden, die proportional der Menge des gefällten Europiumoxalats erniedrigt wird. Europiumoxalat löst sich entspr. 6 μg Oxalsäure/ml, es ist daher mit Eichkurven zu arbeiten. Werden der pH -Wert bei $3,5 \pm 0,5$ und die Temperatur bei 25° C gehalten, so beträgt der mittlere Fehler $\pm 3\%$. Eisen und Chrom stören die Bestimmung. K. CRUSE.

In Ergänzung zu Versuchen über die polarographische Bestimmung von Fumarsäure und Maleinsäure² haben sich P. J. ELVING und I. ROSENTHAL³ eingehend mit der Abhängigkeit der Stromspannungskurven vom pH -Wert befaßt und bestätigen, daß die Analyse der Säuren in 0,7 m Ammoniak-Ammoniumchlorid-Pufferlösung zwar gelingt, daß jedoch eine Erhöhung der Konzentration des Puffers auf 0,9 m nicht nur eine Verbesserung der Pufferkapazität der Lösung, sondern auch eine bessere Auflösung der beiden Stufen bedeutet. Wird gegen eine Kalomelelektrode polarographiert, dann sind auch Polarogramme bei pH 10 zuverlässig, in denen die Maleatstufe verschwindet. Unter alle Umständen ist Temperaturkonstanz erforderlich, da der Diffusionsstrom für beide Substanzen verschiedene Temperaturkoeffizienten hat und da die Maleatstufe bei pH 8,2 sich wie eine kinetische Stufe verhält. Auch eine Veränderung des Quecksilberdrucks über der Capillare wirkt sich auf beide Stufen verschieden aus. Der Einfluß einer Änderung der Ionenstärke der Lösung ist bei pH 8,2 am geringsten.

Sollen einzelne Säuren bestimmt werden, dann kann auch in saurer Lösung ($\text{pH} < 5$) gemessen werden. Im pH -Bereich 5—7 jedoch treten Aufspaltungen der Stufen ein, die eingehend diskutiert werden. K. CRUSE.

Die Bestimmung organischer Thiocyanate durch die Reaktion mit Alkalisulfid nach A. N. PANTSCHENKO und G. S. SMIRNOW⁴ wurde von K. TAKIURA und Y. TAKINO⁵ überprüft. Die erhaltenen Ergebnisse waren unbefriedigend. Der Grund hierfür ist in einer Komplikation der Reaktion durch Hydrolyse oder Solvolyse des Alkalisulfids zu sehen. Dagegen ist die Umsetzung mit *Alkalipolysulfid* für analytische Bestimmungen brauchbar, wie an der Reaktion von *Benzylthiocyanat*

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 487—494 (1954). Chem. Inspect., Min. of Supply, Kidbrooke, London.

² ELVING, P. J., A. J. MARTIN und I. ROSENTHAL: Analyt. Chemistry **25**, 1082 (1953); vgl. diese Z. **146**, 122 (1955).

³ Analyt. Chemistry **26**, 1454—1459 (1954). State Univ., State College, Pa., USA.

⁴ Chem. J. Ser. A., J. allg. Chem. (russ.) **2**, (64), 193 (1932); vgl. d. Z. **104**, 151 (1936).

⁵ J. pharmac. Soc. Japan **74**, 839—842 (1954). [Japanisch.] (Nach engl. Zus.-fass. ref.) Univ. Osaka (Japan).

mit Natriumtrisulfid gezeigt wird. Das Thiocyanat-Ion entsteht genau in der äquivalenten Menge, gleiches gilt vom Disulfid. Die argentometrische Titration des gebildeten Thiocyanat-Ions läßt eine Bestimmung von Benzylthiocyanat mit einer Genauigkeit von $\pm 0,5\%$ zu. Zur Ausführung löst man 0,05–0,2 g des Thiocyanats in 10 ml Alkohol und fügt 10 ml Polysulfid-Reagens zu. Das Reaktionsgemisch erhitzt man unter Rückfluß etwa 30 min lang, verdünnt mit 100 ml Wasser, neutralisiert mit verdünnter Schwefelsäure, säuert mit 2,5 ml 10%iger Schwefelsäure an und erwärmt im offenen Kolben etwa 90 min auf dem Dampfbad, bis Bleiacetapapier nicht mehr geschwärzt wird. Nach dem Abkühlen titriert man langsam mit 0,1 oder 0,02 n Silbernitratlösung, gegen Eisen(III)-alaun (gesättigte Lösung) als Indicator. — Die Natriumtrisulfidlösung stellt man her durch Auflösen von 80,5 g $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ und 21,5 g reinem Schwefel und Verdünnung mit Wasser auf 500 ml. Die Natriumtetrasulfidlösung gewinnt man durch Auflösen von 0,215 g Schwefel in je 10 ml Trisulfidlösung.

Die in voranstehend referierter Arbeit beschriebene Methode zur Bestimmung von Benzylthiocyanat ist nach K. TAKIURA, Y. TAKINO und O. KONDO¹ auch auf andere Thiocyanatverbindungen anwendbar. Die bei der Reaktion mit Natriumtrisulfid entstandenen Disulfide von *Phenyl*-, *2-Carboxyphenyl*-, *2,4-Dinitrophenyl*- und *4-Methoxyphenylthiocyanat* sowie von *Thiocyanoacetanilid* wurden mit 80 bis 99%iger Ausbeute isoliert und identifiziert. Zum Mikronachweis der Thiocyanatgruppe wird folgende Arbeitsweise vorgeschlagen: 1 Tropfen der alkoholischen Lösung der organischen Thiocyanatverbindung versetzt man mit 1 Tropfen Natriumtrisulfid- oder -tetrasulfidlösung, erwärmt 1 min auf dem Wasserbad und fügt 1 Tropfen 10%ige Schwefelsäure zu. Nach einigem Erwärmen und Abkühlen gibt man 1 Tropfen einer 1%igen Salzsäurelösung von Eisen(III)-chlorid zu. Rotfärbung beweist Anwesenheit der Thiocyanatverbindung. Die Erfassungsgrenze liegt bei 1 μg , die Grenzkonzentration bei 1:10000 bis 1:15000. H. FREYTAG.

Aus der Reaktion von SCHIFFSchem Reagens mit Acetaldehyd wurden von S. N. BHATTACHARYA² fünf Verbindungen spektralphotometrisch identifiziert. Das SCHIFFSche Reagens wurde nach W. C. TOBIE³ bereitet, die Absorptionsmessungen wurden mit einem Beckman-Spektralphotometer (Modell DU) ausgeführt. Fuchsin weist ein Absorptionsmaximum bei 535 $m\mu$ auf. Kleine Mengen Acetaldehyd bilden mit dem SCHIFFSchen Reagens einen Komplex, der nur ein Molekül Acetaldehyd je Molekül des Reagens besitzt und ein Maximum bei 545 $m\mu$ aufweist. Bei mehrstündigem Stehen der Lösung wird Fuchsin regeneriert. Bei großem Aldehyd-Überschuß wird ein Komplex gebildet, der zwei Moleküle Acetaldehyd je Molekül SCHIFFSches Reagens enthält und ein Maximum bei 555 $m\mu$ zeigt. Nach einigen Stunden zeigt die Lösung ein Maximum bei 575 $m\mu$, nach längerer Zeit zwei weitere bei 525 $m\mu$ und 615 $m\mu$. Durch Aussalzen konnten die neuen Verbindungen mit Maxima 615 $m\mu$ und 575 $m\mu$ daraus isoliert werden. Die Verbindung mit dem Maximum 525 $m\mu$ entsteht aus der Reaktion von zwei Molekülen Acetaldehyd mit einem Molekül Fuchsin (aus SCHIFFSchem Reagens regeneriert), wie durch Versuche mit reiner Fuchsinlösung bewiesen werden konnte. Die zwei weiteren Verbindungen (Maxima 575 $m\mu$ und 615 $m\mu$) werden durch Abspaltung von einem bzw. zwei Molekülen Wasser aus der Verbindung mit Maximum bei 525 $m\mu$ gebildet. Auch diese konnten aus Fuchsinlösung und Acetaldehyd über die Verbindung mit Maximum 525 $m\mu$ und folgender Wasserabspaltung mit konz. Phosphorsäure oder Acetan-

¹ J. pharmac. Soc. Japan **74**, 843–845 (1954). [Japanisch.] (Nach engl. Zus.fass.ref.)

² Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 463–466 (1954). Univ. Coll. Sci. Technol., Calcutta (Indien).

³ Vgl. diese Z. **145**, 295 (1955).

hydrid erhalten werden. Der Verf. führt ein Formelschema über den vermutlichen Mechanismus an.

H. SPECKER.

Aminosäuren. Mit der Ausarbeitung einer spektralphotometrischen Bestimmungsmethode setzt S. N. BHATTACHARYA¹ seine Untersuchungen über die Anwendbarkeit von SCHIFFSchem Reagens für quantitativ-analytische Zwecke fort². Die basischen Gruppen der Aminosäuren reagieren mit SO₂, welches teils frei, teils am Fuchsinmolekül locker gebunden im SCHIFFSchen Reagens vorliegt. Ist das SO₂ durch zugesetzte Aminosäuren verbraucht, so entwickelt sich die Farbe des freien Fuchsinmoleküls. Verläuft die Reaktion quantitativ, so ist die Farbintensität ein Maß sowohl für den Aminosäuregehalt als auch für die Dissoziation der Aminosäuren. Es wurden *Glycin*, *Alanin*, *Norvalin*, *Leucin* und *Methionin* untersucht. Die entstehenden gefärbten Verbindungen zeigen alle ein Absorptionsmaximum bei der für Fuchsin selbst charakteristischen Wellenlänge 535 mμ, alle Messungen wurden bei dieser Wellenlänge durchgeführt. — Zur Aufstellung von Eichkurven werden zu je 5 ml Reagenslösung² verschiedene Mengen (0,005—0,1 g) der einzelnen Aminosäuren zugesetzt und gemischt. Jeweils 15 min nach dem Mischen wird die Extinktion gemessen und gegen die Aminosäure-Konzentration aufgetragen. Es ergeben sich Gerade, deren Steilheiten von Glycin zum Methionin hin abnehmen. Die Reproduzierbarkeit der Eichkurven und somit der Messungen wurde überprüft. Die Abweichungen vom theor. Aminosäuregehalt betragen weniger als 1%. Die Empfindlichkeit des Reagens nimmt mit steigendem SO₂-Gehalt ab; ein Minimum an SO₂ muß aber vorhanden sein, um den Farbstoff im Leukozustand zu halten. Dieses freie SO₂ begrenzt den Nachweis nach unten. Eine obere Grenze für die Aminosäuremenge scheint nicht zu bestehen. Die Methode erlaubt nicht, Gemische verschiedener Aminosäuren zu bestimmen.

H. SPECKER.

Zur quantitativen polarographischen Bestimmung einzelner Aminosäuren läßt sich vorteilhaft die Umsetzung mit Phthalaldehyd heranziehen, wenn die Abnahme der Diffusionsstromstärke der 2. Aldehydstufe bei -1.47 V (gegen die gesätt. Kalomelektrode) gemessen wird, die der Konzentration an Aminosäure direkt proportional ist, wenn in Borat- oder Carbonatpufferlösung vom pH 10.5 gearbeitet und eine Reaktionsdauer von 2 Std abgewartet wird. Von D. R. NORTON und N. H. FURMAN³ wurde nach dieser Methode die Bestimmung von *Glycin*, *Alanin*, *Tryptophan*, *Asparaginsäure*, *Lysin* und *Histidin* in 10^{-3} m Lösung ausgearbeitet: Man polarographiert in der Pufferlösung, die 0,1 Mol/l jeder Puffersubstanz und 1,5% Alkohol enthält und die vor Aufnahme des Polarogramms mit Stickstoff behandelt wird. Zur Auswertung wird auch mit der Blindprobe verglichen. Die Phthalaldehydkonzentration soll analog der Arbeitsvorschrift für die Bestimmung von Ammoniak⁴ stets in solchem Überschuß bemessen sein, daß sich bei neutralen und sauren Aminosäuren die Kondensationsprodukte 1:1, bei basischen dagegen 3:2 bilden können.

Die Genauigkeit der Methode liegt bei 2%. Ammoniak und auch Gelatine stören die Analyse wie jede Beimengung fremder Aminosäuren. Besitzt eine fremde Säure

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 559—562 (1954). Univ. Coll. Sci. and Technol., Calcutta (Indien).

² BHATTACHARYA, S. N., und A. GHOSE: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 244, 249 (1954); vgl. diese Z. **145**, 295 (1955).

³ Analyt. Chemistry **26**, 1116—1119 (1954). Univ. Washington, D. C., und Univ. Princeton, N. J. (USA).

⁴ NORTON, D. R., and C. K. MANN: Analyt. Chemistry **26**, 1180 (1954); vgl. diese Z. **147**, 123 (1955).

die gleiche Diffusionsstromabhängigkeit, wie dies in einigen Fällen und z. B. bei Glycin und Asparaginsäure der Fall ist, dann können beide Säuren gemeinsam ebenso zuverlässig analysiert werden.

K. CRUSE.

Die Bestimmung von Aminosäuren mit Ninhydrin wurde durch E. C. COCKING und E. W. YEMM¹ gegenüber der Arbeitsweise von W. TROLL und R. K. CANNAN² vereinfacht. Wie bei dieser verläuft die Reaktion mit Ninhydrin quantitativ unter Bildung von Dioxohydrindyliden-dioxohydrindamin (DYDA). — *Ausführung.* 1 ml einer Aminosäurelösung (0,05–2,8 µg Amino-N) wird mit 0,5 ml 0,2 m Citratpuffer (pH 5) versetzt. Darauf werden 0,2 ml einer 5%igen Ninhydrinlösung in Methylcellosolve und 1 ml einer 0,01 m KCN-Lösung in Methylcellosolve entweder getrennt oder zusammen zugesetzt. (Getrennt sind die Reagentien mindestens 1 Monat, das Gemisch ist etwa 1 Woche haltbar.) Die gut gemischte Lösung wird mindestens 15 min auf 100°C erhitzt und 5 min unter laufendem Wasser gekühlt, danach mit 60%igem Äthanol verdünnt und bei 570 mµ gemessen. Die Farben sind 1 Std ganz stabil und in der Intensität denen der mit reinem DYDA erhaltenen äquivalent. Abweichend reagieren nur Tryptophan (80%) und Lysin 110%. Ammoniak gibt 33% der DYDA-Färbung. Dies ist zur Niedrighaltung der Nullwerte von großem Vorteil.

W. KELLNER, H. HELLMUTH und H. MARTIN³ beschreiben eine Verbesserung für den Nachweis geringer Aminosäuremengen in Papierchromatogrammen. Trägt man die Aminosäurelösung, die Aminosäuremengen unterhalb der sonst nachweisbaren Grenzen enthält, in einem Streifen auf, dreht nach Entwicklung und Trocknung den Bogen um 90°, stellt ihn in eine flache Schale mit wenig Wasser und läßt dieses bis zum oberen Rand aufsteigen, so werden die Aminosäuren mitgeführt und an dem oberen möglichst glatten Rand des Papiers angereichert. Sie werden in der üblichen Form sichtbar gemacht. Man erreicht gegenüber dem üblichen Verfahren 4–8fach größere Empfindlichkeit. Aminosäuren mit hohem R_F-Wert in großen Konzentrationen stören.

M. T. BECK und P. ÉBREY⁴ bringen einige Bemerkungen über die Papierchromatographie von Aminosäuren im Anschluß an die Untersuchungen von ZIMMERMANN⁵ über die gegenseitige Beeinflussung der Aminosäuren in Hinsicht auf ihre R_F-Werte. Verff. fanden dabei als neue Gesichtspunkte bei papierchromatographischen Versuchen mit zwei verschiedenen Aminosäuren in variierenden Mengen, daß die Aminosäuren offenbar miteinander reagieren (die Carboxylgruppe mit der Aminogruppe⁶), je nach dem Verhältnis ihrer Konzentrationen und dem Medium, so daß die Chromatogramme nicht nur die Flecken der freien Aminosäuren zeigen, sondern auch die der erwähnten Reaktionsprodukte. Verhindert man die Reaktion der Aminogruppe durch salpetrige Säure, Formaldehyd oder Dinitrofluorbenzol, so gelingt es, exakte Chromatogramme zu bekommen.

H. VON HORST und Y. CARSTENS⁷ beschreiben eine einfache Apparatur, ähnlich der von GIRI und Mitarb.⁸ zur Herstellung einer Vielzahl von Chromatogrammen zur

¹ Biochemic. J. **58** (Proc.), XII (1954). Univ. Bristol (England).

² J. biol. Chemistry **200**, 802 (1953); vgl. diese Z. **146**, 306 (1955).

³ Naturwissenschaften **41**, 304–305 (1954). Hygienisches Inst. Nürnberg.

⁴ Acta chim. Acad. Sci. hung. (Budapest) **4**, 231–233 (1954). Univ. Szeged (Ungarn).

⁵ ZIMMERMANN, G.: diese Z. **138**, 321 (1953).

⁶ FRANKEL, M.: Biochem. Z. **242**, 67 (1931).

⁷ J. chem. Educat. **31**, 576 (1954). Marycrest College, Davenport, Iowa (USA).

⁸ GIRI, K. V., K. V. S. KRISHNAMURTHY und VENKITASUBRMANIAN: Lancet **263**, 562 (1952).

Bestimmung von Aminosäuren im Blutserum. Sie besteht in der Hauptsache aus einem runden Metallreifen über den 1 cm breite Whatman-Nr. 1-Papiersteifen radial gespannt sind. Das Elutionsmittel wird von einem im Zentrum befindlichen Filter-Papierdocht aufgesogen. Vorteile der Methode sind gleichzeitige Behandlung vieler Proben unter gleichen Bedingungen und gute Vergleichsmöglichkeiten mit Kontrolllösungen.

R. A. CLAYTON und F. M. STRONG¹ berichten von einem neuen Lösungsmittelsystem zur *Trennung von Aminosäuren durch Papierchromatographie*, da sich die alten Systeme² für die Trennung von ninhydrinpositivem Material zum Studium eines Pflanzenwuchsstoffes aus Cocosnuß nicht bewährten. Die neue Lösungsmittelkombination besteht aus Methyläthylketon, Propionsäure und Wasser im Verhältnis 75:25:30. Die Lösungsmittel sind vollkommen mischbar und daher in ihrer Zusammensetzung nicht temperaturabhängig. 2–4 µg jeder Aminosäure werden in einer Linie punktförmig auf einen Bogen Whatman-Papier Nr. 1 (46 × 52 cm) aufgetragen. Das Lösungsmittel wandert aufsteigend bei 22–24 °C 40 cm in 20 Std. Nach Lufttrocknung wird mit einer 0,125%igen butylalkoholischen Ninhydrinlösung (+ 5 mg Phenol auf 100 ml) besprüht, 10 min bei 85 °C getrocknet und die Flecken mit einer äthylalkoholischen Lösung von Kupfernitrat³ stabilisiert (Lachsfarbe). Die R_F-Werte von 24 Aminosäuren wurden studiert und sind tabellarisch aufgeführt. Sie sind auf ±2% reproduzierbar. HILDEGARD TELSCHOW.

Eine zweidimensionale, papierchromatographische Schnellmethode zur Trennung und Bestimmung von Aminosäuren geben L. B. ROCKLAND und J. C. UNDERWOOD⁴ an. Noch 0,1 µg einer Aminosäure in 1 µl lassen sich auf einem Papier von etwa 12 cm² trennen und nachweisen. Das erste Lösungsmittelgemisch besteht aus tertiärem Butylalkohol, Ameisensäure (D 1,2) und Wasser (695:10:295), das zweite aus einer phenol-, ammoniak- und wasserhaltigen Phase. (Man mischt 775 g geschmolzenes Phenol (Fp 60° C) und 215 g dest. Wasser in brauner Flasche und versetzt kurz vor Gebrauch 94 ml dieser Phenollösung mit 1 ml konz. Ammoniaklösung.) Im Original befinden sich Angaben über die R_F-Werte von 60 Aminosäuren, Peptiden, Kohlenhydraten und organischen Säuren. Auch Chromatogramme von Testmischungen aus 18 Aminosäuren, das eines salzsauren Caseinhydrolysates und eines enzymatischen Milcheiweißhydrolysates sind beschrieben. K. BRODERSEN.

A. L. LEVY⁵ berichtet über eine papierchromatographische Methode zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren. Die Aminosäuren werden in ihre N-2,4-Dinitrophenyl-(DNP)-verbindungen⁶ übergeführt und nach zweidimensionaler Papierchromatographie und anschließender quantitativer Elution colorimetrisch bei 360 mµ gemessen. — Die Dinitrophenylderivate der Aminosäuren bilden sich quantitativ, wenn man eine wäßrige Lösung der Aminosäuren (20–30 µmol in 3 ml) mit einem leichten Überschuß an 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol (FDNB) 80 min lang bei pH 9,0 und 40° C rührt. Der pH-Wert wird durch zeitweises Zugabe einer standardisierten Alkalilösung gehalten. Nachdem der Überschuß an FDNB durch Ätherextraktion entfernt ist, wird die Lösung angesäuert und die Dinitrophenylaminosäuren werden

¹ Analyt. Chemistry **26**, 1362–1363 (1954). Univ. Madison, Wisc. (USA).

² BLOCK, R. J., R. LE STRANGE und G. ZWIG: Paperchromatography. A Laboratory Manual. New York, Acad. press. Inc. 1952. — CONSDEN, R., A. H. GORDON und A. J. P. MARTIN: Biochem. J. **38**, 224 (1944).

³ KAWERAU, E., and T. WIELAND: Nature (London) **168**, 77 (1951).

⁴ Analyt. Chemistry **26**, 1557–1563 (1954). U. S. Dept. of Agriculture, Pasadena.

⁵ Nature (London) **174**, 126–127 (1954); Univ. Berkeley, Calif. (USA).

⁶ SANGER, F.: Biochemic. J. **39**, 507 (1945); **45**, 563 (1949).

5 mal mit je 5 ml Äther ausgeschüttelt. Die wäßrige Lösung, die Dinitrophenylarginin und α -Dinitrophenylhistidin enthält, wird auf 10 ml verdünnt.

2 ml der ätherischen und 1 ml der wäßrigen Lösung werden in den angrenzenden Ecken eines etwa 45 $\times$ 55 cm großen Whatman Nr. 1-Bogens aufgetragen und aufsteigend mit Toluol-Chloräthanol-Pyridin-0,8 n Ammoniak nach G. BISERTE und R. OSTEUX¹ (modifiziert auf ein Verhältnis von 5:3:1,5:3) chromatographiert. Nach 3—4-stündigem Trocknen bei 40° C werden die Dinitrophenylarginin- und α -Dinitrophenylhistidinflecken an diesem Punkt ausgeschnitten. Absteigend wird 1,5 m wäßrige Phosphatpufferlösung (m NaH_2PO_4 — 0,5 m Na_2HPO_4) zur Benetzung benutzt, wobei alle ätherlöslichen Dinitrophenylaminosäuren getrennt werden, außer Dinitrophenylleucin- und -isoleucin. Die Flecken und drei Blindwerte werden ausgeschnitten, in Proberöhrchen mit 4 ml Wasser versetzt und 15 min bei 55—60° C im Wasserbad erwärmt. Nach 15 min Abkühlung werden sie in eine 1 cm-Küvette gegossen und bei 360 m μ (385 m μ für Dinitrophenylprolin) gemessen. Die Blindwerte haben eine Extinktion von 0,001—0,002 je cm². — Die Extinktionen der Dinitrophenylaminosäuren werden durch Multiplikation mit folgenden Faktoren, die unabhängig vom analysierten Gemisch sind, auf molare Verhältnisse umgerechnet: Asparaginsäure 0,99; Glutaminsäure 0,94; Cystin 0,56; Serin 0,97; Threonin 1,02; Glycin 1,03; Alanin 1,09; Prolin 0,93; Valin 0,99; Methionin 1,21; Leucin und Isoleucin 1,10; Phenylalanin 1,03; Tyrosin 1,54; Lysin 0,64; Histidin 1,62; Arginin 1,06. Die Genauigkeit der Methode beträgt etwa $\pm 4\%$. Sie wurde an mehreren Hydrolysaten aus Hormonen und Fermenten und an synthetischen Aminosäuregemischen erprobt.

HILDEGARD TELSCHOW.

Zur zweidimensionalen Trennung sämtlicher, in Äther löslicher Dinitrophenylaminosäuren verwendet T. DEUTSCH² 0,5 m Natriumcitratlösung (pH 6,4), sowie ein Gemisch von Isobutanol-Butylacetat-20%ige Salzsäure (5:3:2). Nach kräftigem Schütteln dieses Gemisches wird dessen obere Phase benutzt und vor dem Anlaufen das Papier mit der Citratlösung gepuffert. Bei der zweidimensionalen Papierchromatographie wird das Anlaufen mit der Citratlösung begonnen, wodurch das Papier zum Anlaufen mit der Isobutanolmischung gepuffert wird. Das Papier wird an der Luft getrocknet und das Chromatogramm im UV-Licht ausgewertet. Parallelversuche mit reinen Substanzen sind unerlässlich.

J. PLANK.

H. IWANSKY³ berichtet über den Einfluß von Puffergemischen auf die Trennung von DNP-Aminosäuren mit Hilfe der Papierchromatographie an Hand zahlreicher Versuche, angeregt durch Arbeiten von E. F. McFARREN⁴. — Es wurden DNP-Derivate zahlreicher Aminosäuren in Methanol bzw. Eisessig an mit verschiedenen Puffern vorbehandelten Papieren („Elektrophoresepapier“ [Gessner und Kreuzig] und Schleicher und Schüll, 2043a und b) mit verschiedenen Lösungsmittelgemischen mit dem jeweiligen Pufferzusatz auf Trenneffekt unter gleichen Bedingungen geprüft⁵. Empfohlen wird auf „Elektrophoresepapier“ oder Schleicher u. SCHÜLL 2043a aufsteigend zu chromatographieren. Der günstigste pH-Bereich liegt zwischen 9 und 11. Man verwendet das Puffergemisch⁴: 100 ml 0,02 n Borsäure-, KH_2PO_4 - und Phenyllessigsäurelösung + 62,4 ml 0,1 n NaOH-Lösung

¹ Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 50 (1951).

² Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 205—206 (1954). [Ungarisch] (mit dtsh. Zus.fass.). Akad. Wiss., Budapest.

³ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 194—198 (1954). Humboldt-Univ. u. Akad. Wissensch. Berlin.

⁴ McFARREN, E. F.: Analyt. Chemistry **23**, 168 (1951); vgl. diese Z. **136**, 363 (1952).

⁵ ZIMMERMANN, G.: diese Z. **138**, 321 (1953).

($p_H = 10,5$) und das Lösungsmittelgemisch: Butanol-Isoamylalkohol-Äthanol-Puffer (20:20:6,5:10—30.) Im Original sind ausführliche Tabellen der R_f -Werte enthalten.

HILDEGARD TELSCHOW.

Die Darstellung und papierchromatographische Trennung einiger Dinitrophenyl-aminoalkohole beschreiben H. JATZKEWITZ und N.-D. TAM¹. Die Bestimmung der die freie Carboxylgruppe tragenden Aminosäure in Proteinen erfolgt bekanntlich durch Reduktion zum Alkohol, Umsetzung des Hydrolysates mit Dinitrofluorbenzol (DNFB), Abtrennung der farbigen DNP-Aminoalkohole von den sauren DNP-Aminosäuren und papierchromatographische Auftrennung des Gemisches. Glycin, Alanin, Valin, l-Leucin, Serin, Phenylalanin, l-Tyrosin und Tryptophan werden in die Aminoalkohole übergeführt und in wäßrig-acetonischer Lösung in Gegenwart von Hydrogencarbonat mit DNFB umgesetzt. — Die isolierten DNP-Aminoalkohole sind kristallisierte, gelbe bis rote Verbindungen. Ihre papierchromatographische Auftrennung erfolgt nach einer Modifikation der Methode von K. V. GIRI und N. A. N. RAO². Die R_f -Werte werden nach der aufsteigenden Arbeitsweise bestimmt. — Kleine Chromatogramme für orientierende Versuche werden aus einem viereckigen Stück Whatman Nr. 1-Papier hergestellt, das zwischen zwei Petri-Schalen von 12 cm gelegt wird und im Schnittpunkt der Diagonalen einen Docht (2,5×50 mm) trägt. Hierdurch wird das Lösungsmittelgemisch aus der unteren Schale angesaugt. Die Lösungen der zu untersuchenden Stoffe werden punktförmig auf einen Mittelpunktskreis von 10 mm $\varnothing$ gesetzt. Die großen Chromatogramme werden zwischen zwei Heizexsiccatorböden von 27 cm $\varnothing$ hergestellt. Der Docht ist 4—5 mm breit und 80 mm lang. Der Startkreis hat 20 mm $\varnothing$. — Die aufsteigende Chromatographie wird nach H. HELLMANN³ durchgeführt. — Von 42 ausprobierten Lösungsmittelgemischen ist die organische Phase des Systems Isooctan-Isopropanol-Wasser (30:7,5:1,5) am geeignetsten. Es lassen sich sieben der Derivate trennen. DNP-Phenyl-alaninol und DNP-Valinol lassen sich mit keinem der Systeme trennen. — Die Arbeit bringt eine Übersicht der Schmelzpunkte und R_f -Werte der untersuchten DNP-Derivate, ferner Herstellungsvorschriften der DNP-Derivate mit Schmelzpunkten und Beleganalysen.

TH. BREYHAN.

An einer Reihe systematischer polarographischer Messungen an Co-haltigen Cysteinlösungen in ammoniakalischer Lösung haben H. WIELE und N. GERLICH⁴ zeigen können, daß sich aus der Unterdrückung des polarographischen Maximums mittels organischer, mit Wasser mischbarer Lösungsmittel und Substanzen für letztere charakteristische Kenngrößen ableiten lassen, da die vollständige Unterdrückung des Maximums in der Regel an eine für den Dämpfer charakteristische optimale Konzentration gebunden ist. Maximale Dämpfung wird z. B. für n-Propanol mit 3,6, mit Isopropanol mit 7,2, mit Methanol mit 24,6 und mit Äthylalkohol mit 30,9 Vol % Zusatz erreicht. Auch mehrwertige Alkohole (Glykol, Butylenglykole, Glycerin, Erythrit, Sorbit) lassen sich nach dieser Methode in eine entsprechende Reihe einordnen. Polyäthylenglykole, in 0,01% iger wäßriger Lösung verwendet, sind sehr starke Dämpfer: 0,0001—0,0005% beseitigen das Maximum bereits vollständig. Die dämpfende Wirkung nimmt mit steigendem Molekular-

¹ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **296**, 188—192 (1954). Max-Planck-Inst. für Biochemie, Tübingen.

² Nature (London) **169**, 923 (1952); vgl. diese Z. **141**, 133 (1954).

³ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **288**, 95 (1951) und Z. ges. inn. Med. Grenzgebiete **6**, 577 (1951).

⁴ Arzneimittelforsch. **4**, 674—677 (1954). Städt. Krankenhaus Bielefeld u. Universitäts-Hautklinik Köln.

gewicht aber ab. Wird Dioxan zugesetzt, so tritt eine Vergrößerung des Maximums und bei geringen Gehalten eine zweite Stufe auf, die bei mehr als 30% Dioxan verschwindet. Auch bei Verwenden von Aceton erhält man eine solche zweite Stufe, die dann bei großen Gehalten an Aceton aber erhalten bleibt. Die optimale Dämpferkonzentration für Aceton liegt bei 40%.

K. CRUSE.

E. SCHRAM, S. MOORE und E. J. BIGWOOD¹ haben eine Methode ausgearbeitet, um *Cystin als Cysteinsäure chromatographisch zu bestimmen*. Das Cystin und der Cysteinrest werden im intakten Protein mit Perameisensäure zu Cysteinsäure oxydiert, die in der nachfolgenden Salzsäurehydrolyse stabil ist. Die Isolierung und Bestimmung gelingt nach dem Prinzip von S. MOORE und W. H. STEIN² an Ionenaustauschern. Es wurde der stark basische Harzaustauscher, Dowex 2, benutzt. Die Perameisensäure wird durch Hinzufügen von 1 Vol 30%igem Wasserstoffperoxyd zu 9 Vol 88%iger Ameisensäure dargestellt. Nach einstündigem Stehen bei Raumtemperatur werden 25 ml des Reagenses von 0° C zu der Probe (Aminosäuren oder lösliches Protein, 1–2 mg Cystin enthaltend) zugefügt und 4 Std bei 0° C stehengelassen (bei unlöslichen Proben 16 Std im Eisschrank). Danach wird das Reagens im Vakuum bei 30–40° C (rotierender Evaporator nach L. C. CRAIG, J. D. GREGORY und W. HAUSMANN³) entfernt (10–15 min), aber nicht zur Trockne eingedampft. Bei Untersuchung von Proteinen wird der Rückstand sofort in 50 ml 6 n Salzsäure am Rückflußkühler 20 Std gekocht. (Sind mehr als 90% Kohlenhydrat anwesend, so werden 100 ml Salzsäure zur Hydrolyse benötigt.) Nach Filtration durch eine Glasfritte wird wieder zur Trockne in dem Evaporator eingedampft und einige Stunden über NaOH im Vakuumexsiccator getrocknet. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und nachdem er tropfenweise mit 0,1 n NaOH-Lösung (Methylrot als Indicator) auf pH 5 eingestellt war, auf 10 ml aufgefüllt. 1- oder 2 ml-Abnahmen des Hydrolysats (entsprechend 0,1–0,2 mg Cystin) werden auf eine 0,9 · 15 cm Säule in der chloressigsäuren Form von Dowex 2-X 10 (200–400 mesh) gebracht und die Cysteinsäure mit 0,1 n Chloressigsäure, nach einem Vorlauf von 100 ml eluiert bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 5 ml Std. Die 1 ml-Proben werden nach der Ninhydrinmethode⁴ quantitativ ausgewertet, nachdem sie einzeln mit 0,1 ml 1,25 n Natronlauge neutralisiert wurden. Der Farbwert der Cysteinsäure ist 1,01 auf Leucin gleich 1 bezogen. Cystin und Cystein geben 90–20% der theoretischen Ausbeute an Cysteinsäure. Die Methode ist besonders geeignet für *Nahrungsmittelanalysen*.

HILDEGARD TELSCHOW.

Zur colorimetrischen und jodometrischen Bestimmung von Methionin verwendet I. KORPÁČZY⁵ abgeänderte Methoden von M. X. SULLIVAN und T. E. MCCARTHY⁶, bzw. von A. A. ALBANESE, I. E. FRANKSTON und V. IRBY⁷. *Zur colorimetrischen Bestimmung* wird das trockene Proteinhydrolysat in 0,1 n Salzsäure gelöst, 5 ml (0,5 bis 5 mg Methionin enthaltend) in einer Epruvette mit 1 ml 14,3 n Natronlauge, 1 ml 1%iger Glykokollösung, 0,3 ml 10%iger Natriumnitroprussiatlösung vermischt und auf 10 min in ein Wasserbad von 35–40° C gestellt. Nach raschem Abkühlen und Zugabe von 5 ml Säuremischung (45 ml Wasser + 45 g konz.

¹ Biochemic. J. **57**, 33–37 (1954). Univ. Brüssel.

² J. biol. Chemistry **190**, 203 (1951); **192**, 663 (1951); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952).

³ Analyt. Chemistry **22**, 1462 (1950).

⁴ MOORE, S., and W. H. STEIN: J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948).

⁵ Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 241–243 (1954). [Ungarisch.] [M. engl. Zus.fass.]
Verpflegungswiss. Inst. Budapest.

⁶ J. biol. Chemistry **133**, 6 (1940).

⁷ J. biol. Chemistry **156**, 293 (1944).

Schwefelsäure und 10 ml 85%ige Phosphorsäure) 10 min in Wasser von Raumtemperatur stehengelassen. Nach öfterem Durchmischen wird die Lösung mit Wasser auf 10 ml ergänzt und die Extinktion bei 510 m μ im Beckman DU-Spektrophotometer (PULFRICH-Photometer ist nicht geeignet) gegen eine Blindprobe gemessen. — Bei der abgeänderten *jodometrischen Methode* werden zur je 0,5–10 mg Methionin enthaltenden Lösung je 1 ml Oxydationsgemisch (96 ml 60%ige Überschlorsäure + 4 ml 30%iges Wasserstoffperoxyd auf 300 ml verdünnt) gegeben. Nach 6 Std werden 2 ml 50%ige Kaliumjodidlösung und 20 ml Katalysatorlösung (1 g Ammoniummolybdat in 750 ml Wasser gelöst, mit 50 g konz. Schwefelsäure versetzt und auf 1 Liter verdünnt) gegeben und das ausgeschiedene Jod mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung gemessen. Ebenso wird der Blindwert bestimmt und das Ergebnis aus einer mit reinem Methionin bereiteten Eichkurve abgelesen.

J. PLANK.

F. MICHEEL und B. SCHLEPPINGHOFF¹ berichten über die quantitative *Abspaltung von Carbobenzoxysterren aus Aminosäure- und Eiweißderivaten* durch katalytische Hydrierung und ihre Mikrobestimmung als Toluol. Die Aufspaltung der N-Carbobenzoxy-Verbindung (Cbo.) (Cbo.-Glykokoll, Cbo.-tyrosylalbumin, Cbo.-tyrosylgelatine) geschieht mit Palladium-Calciumcarbonat als Katalysator (nach PAAL) in Wasser. — *Ausführung.* 10–30 mg Cbo.-Glykokoll werden in Wasser gelöst, mit 0,1 n Natronlauge auf pH 8 gebracht und 30 min mit 500 mg Katalysator und Wasserstoff hydriert, mit 10 ml Benzin (Kp 30–40 °C, rein von ungesättigten und aromatischen K. W.) überschichtet und in den Extraktionskolben einer besonderen Extraktionsapparatur dekantiert (mit Wasser-Benzin nachspülen). Dann wird mit 30–35 ml Benzin in dem Siedekolben bei 60 °C (Thermostat) 5–6 Std extrahiert. Letztere Benzinmenge wird sodann genau gemessen und mit je 10 ml Lösung die Toluolmenge mittels des Spektrophotometers (Unicam) bei 2685 Å bestimmt. Die Eichkurve wird mit reinem Toluol aufgestellt. Der Katalysator wird mit 15 ml 96%igem Äthanol 10 min ausgekocht, abzentrifugiert und das Toluol in einem aliquoten Teil in gleicher Weise bestimmt.

HILDEGARD TELSCHOW.

Eine *Methode zur gleichzeitigen Bestimmung der aminendständigen (N-AS) und der carboxylendständigen Aminosäure (C-AS) in Peptiden* wird von K. SCHLÖGL und E. WAWERSICH² angegeben. Das Verfahren beruht auf folgendem Prinzip. Wird ein N-Carbobenzoxy-Peptid 4–6 Std. mit Hydrazinhydrat auf 100 °C erhitzt, so spalten die Peptidbindungen unter Bildung von Aminosäurehydraziden (I), während die C-AS unverändert bleibt und die N-AS unter gleichzeitiger Hydrazinolyse der N-Carbobenzoxybindung als Dihydrazid (II) anfällt. In einem Teil des von überschüssigem Hydrazin befreiten Reaktionsgemisches (A) werden I und II mit Benzaldehyd in die Benzal- bzw. durch Kochen mit Aceton in die Isopropylidenverbindungen übergeführt, worauf die unverändert gebliebene C-AS papierchromatographisch bestimmt wird. Der Rest von A wird 10–20 min mit Wasser gekocht, wobei II durch Ringschluß in Triazine (III) bzw. Aminohydantoine (IV) übergehen, die nach dem Ansäuern mit Äther extrahiert werden können. Damit kann die N-AS, von den unverändert gebliebenen und aus saurer Lösung nicht extrahierbaren Hydraziden und Aminosäuren abgetrennt werden. Die Aminosäurederivate III und IV lassen sich papierchromatographisch identifizieren.

H. SPERLICH.

Zur colorimetrischen Bestimmung von Carbamylaminosäuren und verwandten Verbindungen benützen S. B. KORITZ und Ph. P. COHEN³ folgende Reagentien:

¹ Mikrochim. Acta (Wien) 1954, 494–500. Univ. Münster/Westf.

² Naturwissenschaften 41, 38–39 (1954). Univ. Wien.

³ J. biol. Chemistry 209, 145–150 (1954). Univ. Madison, Wisconsin (USA).

I. 50 Vol₀ige Schwefelsäure, II. 1₀ige wäßrige Na-Diphenylamino-p-sulfonat-lösung (im Dunkeln aufzubewahren), III. 3₀ige wäßrige Diacetylmonoximlösung und IV. 1₀ige Kaliumpersulfatlösung (im Kühlschrank aufzubewahren). 3 ml der Analysenlösung werden in einem Reagensglas mit 6 ml I, 0,1 ml II und 0,25 ml III versetzt, gut gemischt und mit Gummistopfen verschlossen 10 min lang im siedenden Wasserbad erwärmt. Nach Kühlen mit Kaltwasser fügt man 0,25 ml IV zu, mischt schnell und bringt verschlossen und nochmals genau 1 min lang in siedendes Wasser, dann wird rasch gekühlt und im Dunkeln aufbewahrt. Die entstehende Rotfärbung hat nach 10 min ihre größte Intensität erreicht und zeigt ein Absorptionsmaximum bei 560 m μ . Ihre Extinktion wird bei 550 m μ gemessen und mit entsprechenden Standardlösungen verglichen. Der Fehler beträgt bei bis zu 0,5 μ Mol Analysenmaterial 6₀, darüber 3₀. Schwefelhaltige Substanzen, wie Cystein, Cystin oder Methionin, stören die Farbentwicklung, ihre Wirkung kann durch größere Zugaben von IV aufgehoben werden (Tabellen im Original).

K. SÖLLNER.

Die Titration von N-Carboxy- α -Aminosäureanhydriden führen A. BERGER, M. SELA und E. KATCHALSKI¹ in wasserfreien Lösungsmitteln mit einer Lösung von Natriummethylat in Methylalkohol und Benzol unter Verwendung von Thymolblau als Indicator aus. Es bildet sich im überwiegenden Maße das salzsaure Salz des Carbonsäureesters, in geringer Menge auch der N-Carboxylester. Der Umschlagspunkt ist scharf und die Genauigkeit beträgt $\pm 2\%$ für 0,1—0,5 mMol bei der Makromethode oder für 0,003—0,03 mMol bei der Mikromethode. Aus dem Titrationsergebnis kann das Molekulargewicht berechnet werden und es ist möglich, Polymerisationsprodukte während der Spaltung zu verfolgen. K. HINSBERG.

Eine kritische Überprüfung verschiedener Methoden zur Glykokollbestimmung verdankt man H. WINTER². Die besten Erfahrungen wurden mit der Methode von G. KLEIN und H. LINSE³ in der Ausführungsform von K. BRECHT und H. GRUNDMANN⁴ gemacht, welche die Farbreaktion zwischen Glykokoll und o-Phthaldialdehyd in saurer Lösung ausnützt. Sie macht jedoch die Entfernung störender Aminosäuren notwendig, was durch Adsorption an Filtrol-Neutrol oder an Wofatit C (Levatit) geschieht. — *Adsorption an Filtrol-Neutrol*. 3 g dieses Adsorbenses werden in Wasser aufgeschlämmt, auf eine Glasfritte (II G 3) gebracht und nach 5 min leicht angesaugt. Beim zweimaligen Waschen mit Wasser darf die Schicht nicht trocken werden. Wasser und Aminosäurelösung sollen pH 7,0 haben. Letztere wird, bevor das Wasser ganz abgelaufen ist, vorsichtig mit einer Pipette vom Rand der Glasfritte her aufgetragen. Mit einer Tropfgeschwindigkeit von 30 Tr./min wird abgesaugt und das Filtrat in einem 50 ml-Meßkolben gesammelt. Man wäscht mit Wasser nach und füllt zur Marke auf. — *Adsorption an Wofatit C (Levatit)*. Das Adsorbens wird bei 100° C getrocknet, in der Kugelmühle gemahlen und auf eine Teilchengröße von 0,1—0,2 mm gebracht. Diese Substanz wird mit 2 n Kalilauge, anschließend mit 2 n Salzsäure bis zur Farblosigkeit der Waschflüssigkeit und zuletzt mit Wasser bis zu neutraler Reaktion gewaschen. Auf eine Säule aus 1 g Wofatit in einem Röhrchen von 20 cm Höhe und 1 cm ϕ wird nach Vorspülen mit Wasser die Aminosäurelösung gebracht. Zum Auswaschen ist hier eine größere Menge an Wasser notwendig, so daß in einem 100 ml-Meßkolben aufgefangen werden muß. — *Glykokollbestimmung*. 1 ml der Aminosäurelösung, 400—500 μ g Glykokoll enthaltend,

¹ Analyt. Chemistry **25**, 1554—1555 (1953). Weizmann Inst. Sci., Rehovoth, Isr.

² Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 34—42 (1954). Techn. Univ. Berlin-Charlottenburg.

³ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **205**, 251 (1932); vgl. diese Z. **93**, 67 (1933).

⁴ Biochem. Z. **302**, 42 (1939); vgl. diese Z. **125**, 214 (1943).

werden mit 0,5 ml Phosphatpuffer (pH 8,0) und 1,5 ml 1%iger o-Phthaldialdehyd-lösung in 10% igem Alkohol versetzt und 2 min geschüttelt. Dann fügt man 2 ml Alkohol-Schwefelsäuregemisch (6:1) zu und schüttelt wieder 2 min um. Der sich bildende grüne Farbstoff wird mit 5 ml Chloroform ausgeschüttelt. 3 ml dieses Extrakts werden in einer Küvette mit 0,5 ml Alkohol zur Beseitigung einer schwachen Trübung versetzt und anschließend im PULFRICH-Photometer unter Verwendung von Filter S 72 photometriert. Die Auswertung erfolgt an Hand einer Eichkurve.

Die Bestimmungsmethoden von Glykokoll nach der Ninhydrinreaktion¹ oder als Dinitrophenylverbindung² sind nicht zu empfehlen. L. ACKER.

Die fluorimetrische Bestimmung von Säuren mit mehreren Carboxylgruppen im Anschluß an ihre chromatographische Trennung wird von CH. E. FROEMAN und J. M. ORTEN³ beschrieben. — Nach Chromatographie an Silicagel unter Verwendung einer Mischung von tertiärem Amylalkohol und Chloroform als Eluens werden 0,1 ml einer 0,4% igen Resorcinlösung jeder Fraktion zugegeben. Dann wird in einem Salzbad von 108° C zur Trockne eingedampft. Nach 20 min Erhitzen wird jede Probe 2 min unter Belassung im Salzbad mit einem Aspirator ausgeblasen. In die trockenen Reagensgläser gibt man dann 0,1 ml Schwefelsäure und erhitzt 20 min im siedenden Wasserbad. Der Rückstand wird in 5 ml 1,5 n Natronlauge gelöst und die Fluoreszenzintensität in einem Coleman-Photofluorimeter mit Blaufilter gegen eine Blindprobe gemessen (Standard: 20 µg Chininsulfat 100 ml). Für jede der Säuren wurde zwischen 0 und 200 µg eine besondere Eichkurve aufgenommen. Die Fluoreszenzen (Intensitäten) waren folgende: Fumarsäure: blauviolett (24), Ketoglutarinsäure: blaugrün (35), Oxalessigsäure: blaugrün (12), Bernsteinsäure: gelbgrün (20), Aconitsäure: hellblau (75), Malonsäure: blauviolett (22), Isocitronensäure: hellblau (58), Citronensäure: himmelblau (89). Kontrolle der Resultate erfolgte durch Indication mit radioaktivem Kohlenstoff (¹⁴C), welcher als Acetat den zum Versuch verwendeten Ratten in die Leber indiziert wurde. Es ergab sich völlige Übereinstimmung mit der fluorimetrischen Methode. J. EISENBRAND.

Zur Bestimmung von Aconitsäure haben V. S. PANSARE und D. SUBBA RAO⁴ das von E. J. ROBERTS und J. A. AMBLER⁵ angegebene Decarboxylierungsverfahren in den Mikromaßstab übertragen. 10 mg Aconitsäure können mit einer Genauigkeit von ± 1% bestimmt werden. — *Ausführung.* Man versetzt die etwa 10 mg Aconitsäure enthaltende Probe in einem Kölbchen mit 3,5 ml einer Lösung von 100 g wasserfreiem Kaliumacetat in 900 g Eisessig oder 3,5 ml einer Lösung von 100 g Kaliumacetat + 10 g Borsäure in 920 ml Eisessig + 30 ml Essigsäureanhydrid. Hierauf kocht man 50 min unter Flüssigkeitsrückfluß im Luftstrom (5–6 ml min) und leitet das Gas durch eine Waschflasche mit Wasser zum Zurückhalten der Essigsäuredämpfe, dann zum Trocknen durch konz. Schwefelsäure und ein Dehydrite-Rohr und fängt schließlich die Kohlensäure in einem gewogenen Ascaritrohr auf. H. SPERLICH.

Bei der Oxydation von Kohlenhydraten mit Perjodat wird der Überschuß an Perjodat meist bestimmt, indem man mit Kaliumjodid in neutraler Lösung umsetzt und das freigewordene Jod mit arseniger Säure in mit Hydrogencarbonat oder Phosphat gepufferter Lösung titriert. Das Verfahren gibt zu hohe Resultate.

¹ KRÜGER, R.: *Helv. chim. Acta* **32**, 238 (1949).

² SANGER, F.: *Biochemie. J.* **39**, 507 (1945).

³ J. biol. Chemistry **205**, 717–723 (1953). Wayne Univ., Detroit, Mich. (USA).

⁴ *Mikrochim. Acta* (Wien) **1954**, 545–549. Nat.Chem. Lab. of India, Poona.

⁵ *Analyt. Chemistry* **19**, 118, 877, 879 (1947).

J. C. P. SCHWARZ¹ weist darauf hin, daß die Fehler entgegen Angaben in der Literatur nicht auf unvollständige Reaktion, sondern darauf zurückzuführen sind, daß die in der Lösung vorhandenen Oxydationsprodukte der Kohlenhydrate neutrale Jodlösung entfärben, weil Oxydation oder Jodierung eintritt. Die Fehler werden vermieden, wenn man zur Bestimmung des Perjodatüberschusses mit Jodkalium in saurer Lösung umsetzt und das Jod dann mit Thiosulfat titriert. K. BRODERSEN.

Zur Mikrobestimmung von reduzierend wirkenden Zuckern erwärmen M. YAMAGISHI und M. YOKOO² ein Gemisch aus dem Zucker und Kaliumhexacyanoferrat(III) 30 min im Wasserbad auf 100° C und ermitteln dann das noch vorhandene $K_3[Fe(CN)_6]$ durch Messen des bei der Reaktion mit Hydrazin entstehenden Stickstoffs. Das Verfahren ist für Mengen von 10–120 µg von Aldohexosen, Kethexosen und Aldopentosen geeignet. G. DENK.

Über die Bestimmung von Hexosezuckern in Gegenwart von Pentosen mit Hilfe des Anthronreagenses stellt R. JOHANSON³ Untersuchungen an. Bei Anwendung der üblichen Anthronlösung in 92–95%iger Schwefelsäure treten bereits durch geringe Änderungen der Durchmischungs-technik erhebliche Unterschiede in der Farbintensität auf. Außerdem bewirkt die Anwesenheit steigender Mengen an Pentosen (Arabinose, Xylose, Ribose) eine zunehmende Verschiebung des Absorptionsmaximums der Lösung von 625 mµ zu 680 mµ. Dieser störende Pentoseeinfluß wird weitgehend beseitigt, wenn man an Stelle der konz. Schwefelsäure 81 Vol %ige Säure zur Herstellung des Anthronreagenses benutzt. Bei Anwendung der folgenden gleichmäßigen Arbeitstechnik kann der Fehler der Methode unter 10% herabgedrückt werden. — *Ausführung.* Eine rotierende Scheibe (11 cm Ø) trägt in einer zentralen Vertiefung einen Erlenmeyer-Kolben (30 ml), der durch vier Federn gehalten wird. Das Ganze befindet sich auf einer 10 cm hohen vertikalen Säule und wird von einem Rührmotor angetrieben (400 U/min). Der Kolben wird mit 3–0,003 ml der zu untersuchenden Lösung gefüllt, auf die Scheibe gesetzt und unter Rotieren werden aus einer schnell auslaufenden Pipette $9 \pm 0,05$ ml Anthronreagens zugegeben (100 mg Anthron in 100 ml 81 Vol %iger Schwefelsäure gelöst und 12 Std bei 0–3° C stehengelassen). Die schwefelsaure Lösung bildet auf diese Art eine gesonderte Schicht. Beim Entfernen des Kölbchens von der Scheibe erfolgt sofort durch kräftiges Schütteln die Durchmischung der beiden Lösungen. Hierauf erhitzt man 7–10 min im Wasserbad auf 90° C, kühlt auf Raumtemperatur ab und mißt nach 30 min bei 625 mµ. TH. BREYHAN.

Zur spektralphotometrischen Bestimmung von Glucose in Gegenwart von Fructose mit Natriumchlorit arbeiten F. STITT, S. FRIEDLANDER, H. J. LEWIS und F. E. YOUNG⁴ eine Methode aus. Liegen in saurer Lösung chlorige Säure, Glucose und Fructose (allgem. Aldosen und Ketosen) vor, so laufen zumindest drei chloroxydliefernde Reaktionen ab: 1. Disproportionierung der chlorigen Säure, 2. Oxydation der Glucose durch chlorige Säure und 3. Oxydation der Fructose durch chlorige Säure. Der Reaktionsablauf wird durch spektralphotometrische oder colorimetrische Messung des entstandenen Chlordioxyds verfolgt. Die Oxydation der Glucose erfolgt wesentlich schneller als die der Fructose. Als günstigste Reaktionsbedingungen ermittelten die Verff. essigsäure, natriumacetat-gepufferte

¹ Chem. and Ind. 1954, 1000. Trinity Coll., Dublin (Nord-Irland).

² J. pharmac. Soc. Japan 74, 958–960 (1954). [Japanisch] (nach engl. Zusammenfass. refer.). Takeda Pharmaceutical Industries Ltd.

³ Analyt. Chemistry 26, 1331–1333 (1954). Plant Industry, Commonwealth Scientific. a. Ind. Res. Organization, Canberra (Australien).

⁴ Analyt. Chemistry 26, 1478–1484 (1954). U.S. Dptm. Agricult. Albany, Calif.

Lösung, pH 4,0, Gesamtacetatkonzentration 1,5 molar, Natriumchloritkonzentration 0,060 molar, Reaktionsdauer 18 Std, Temperatur 25° C, verschlossene Reaktionsgefäße, die auch als Meßgefäße (Küvette, Colorimeterglas) dienen und möglichst wenig dem Licht ausgesetzt werden dürfen. Die Chlordioxydbestimmungen wurden mit einem Beckman-Modell DU-Spektralphotometer ausgeführt. Chlordioxyd zeigt in wäßriger Lösung ein Absorptionsmaximum bei 358 m μ , aber wegen der Absorption des Natriumchlorits in diesem Bereich werden die Wellenlängen 435,8 m μ (Hg-Licht) oder 436,0 m μ (Wolfram-Licht) empfohlen. Die Absorptionskoeffizienten von Chlordioxyd in wäßriger Lösung wurden bei verschiedenen Wellenlängen und Konzentrationen bei 25° C bestimmt; sie folgen dem BEERSchen Gesetz. Der Glucosegehalt wird aus der Differenz des erzeugten Chlordioxyds aus der Testsubstanz und aus einer Bezugssubstanz aus reiner Fructose (durch Umkristallisation aldosefrei zu erhalten) ermittelt. Die Differenz der Chlordioxydkonzentrationen aus Test- und Bezugslösung muß aus zwei Gründen korrigiert werden, ehe sie dem der Glucose zugehörigen Betrag entspricht. Einmal wird vermutlich durch langsame hydrolytische Disproportionierung Chlordioxyd verbraucht. Zum anderen ist die Chloritkonzentration der Test- und der Bezugslösung während des Fortschreitens der Reaktion nicht mehr die gleiche. Zur ausführlichen Unter- richtung über die Vornahme der Korrekturen muß auf die Originalarbeit verwiesen werden. Die Verf. führten so auf spektralphotometrischem Wege Glucosebestimmungen in Fructose durch. Bei Substanzen mit Glucosegehalten von 0,05 bis 0,5% lag der mittlere absolute Fehler etwa bei 0,003%, bei Glucosegehalten von 0,5—5% bei etwa 0,03% und um 1% bei Substanzen mit mehr als 5% Glucose. Der entsprechende mittlere Fehler für colorimetrische Bestimmungen ist um einen Faktor 1,5—2 größer.

H. SPECKER.

Bei der Papierelektrophorese von O-Methylderivaten der α -Fructose nach dem Verfahren von R. CONSDEN und W. M. STANIER¹ und anschließender Kennzeichnung durch Besprühen mit salzsaurer Harnstofflösung nach R. DEDONDER² stellten D. J. BELL und D. H. NORTHCOTE³ fest, daß die Grüngräufärbung bei solchen Fructosederivaten einer ockerbraunen Platz macht, die, wie z. B. das 1,3,4,5-Tetra-, das 1,4,5-Tri- und das 4,5-Di-O-Methyl-Derivat, im Pyranosering vorliegen, eine Beobachtung, die W. E. A. MITCHELL⁴ an den 1,4,5- und 4,5-Verbindungen bei Besprühen mit Harnstoff-Oxalat-Lösung ebenfalls machte. Enthält das Sprühreagens Borat, so sind auch die Flecken von freier Fructose, Saccharose und von Methyl- β -D-fructopyranosid ockerbraun.

K. CRUSE.

Zur colorimetrischen Bestimmung von Fructose-6-phosphat und Fructose-1,6-diphosphat eignet sich nach J. H. ROE und N. M. PAPADOPOULOS⁵ die von J. H. ROE⁶ für freie Fructose angegebene Methode in passend abgeänderter Form. — Reagentien: I. Lösung von 0,1 g Resorcin und 0,25 g Thioharnstoff in 100 ml Eisessig (im Dunkeln 2—3 Monate haltbar). II. Standard-Fructose-Lösungen. a) Stammlösung: 100 mg reine, bei 60—70° C im Vakuum getrocknete Fructose in 100 ml gesättigter Benzoesäurelösung (BL) gelöst. b) Arbeitslösung: 2 ml IIa + 98 ml BL; 1 ml dieser Lösung entspricht 0,02 mg Fructose. — *Verfahren.* Gewebe wird mit 5%iger Trichloressigsäurelösung homogenisiert, Blut mit dem gleichen Reagens

¹ Nature (London) **170**, 1069 (1952).

² Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **34**, 144 (1952).

³ Chem. and Ind. **1954**, 1328—1329. Univ. Cambridge (England).

⁴ Thesis 1953, Edinburgh (Schottland).

⁵ J. biol. Chemistry **210**, 703—707 (1954). George Washington Univ., Washington.

⁶ J. biol. Chemistry **107**, 15 (1934).

enteiweißt, die Filtrate werden auf einen Gehalt von 4–40 µg Fructose/ml verdünnt. 2 ml der Prüflösung werden in einem Zentrifugenglas von 15 ml Inhalt nach Zusatz eines Tropfens alkoholischer Phenolphthaleinlösung tropfenweise mit gesättigter Natronlauge auf Bläbrosa neutralisiert. Dann werden 1 ml Pufferlösung von pH 7,5 (50 ml 0,2 m KH_2PO_4 -Lösung + 40 ml 0,2 n NaOH-Lösung in 200 ml) und Bromdampf bis zur schwachgelben Färbung zugesetzt. Nach 30 min wird der Bromüberschuß durch Einleiten von Luft entfernt. Nach Zusatz eines weiteren Tropfens Phenolphthalein und Neutralisation mit Natronlauge werden 3 Tropfen 25%iger Bariumacetatlösung zugesetzt und wieder Natronlauge bis zur Bläbrosafärbung zugegeben. Nach 15 min langem Stehen bei Raumtemperatur wird 5 min zentrifugiert. Die blanke Lösung (L) wird in ein graduiertes 15 ml-Zentrifugenglas abgegossen. Die aus Ba-Fructosediphosphat bestehende Fällung wird durch Aufrühren mit 5 ml 75%igem Äthanol und Zentrifugieren gewaschen. L wird nach Zusatz des 4fachen Volumens 95%igem Äthanol und erneuter Neutralisation nach 30 min langem Stehen bei Raumtemperatur 5 min geschleudert. Das aus Ba-Fructosemonophosphat bestehende Sediment wird, wie beschrieben, mit 85%igem Äthanol gereinigt. Beide Gläser werden zum Ablaufen der Flüssigkeitsreste 5 min umgekehrt aufgestellt. Nun werden sie mit je 10 ml einer gekühlten Mischung aus 6 Vol konz. Salzsäure und je 2 Vol I und Wasser gefüllt, nach gründlichem Durchrühren der Bodensätze wird zur Abtrennung des gebildeten Bariumchlorides zentrifugiert. Die blanken Flüssigkeiten werden in Colorimetergläser gegossen. Ein drittes Colorimeterglas wird mit je 2 ml IIb und I und 6 ml Salzsäure, ein viertes mit je 2 ml Wasser und I und 6 ml Salzsäure beschickt. Nach 13 min langem Erwärmen der vier Gläser im Wasserbad auf 80° C werden sie gekühlt. Unter Vorschaltung eines 515 mµ-Filters wird anschließend die Extinktion (E) gemessen, wobei die der Blindprobe jeweils abgezogen wird. Die Berechnung des Gehaltes wird nach folgender Formel durchgeführt:

$$\text{mg Fructose je 100 g oder ml} = \frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \cdot 0,04 \cdot \frac{\text{ml Extrakt}}{2} \times \frac{100}{\text{g od. ml Probe}} \cdot K. \text{ SÖLLNER.}$$

Die Bestimmung von Mono- und Diacetonsorbose nebeneinander wird von T. I. TEMNIKOVA und V. V. SKLJAROVA¹ beschrieben. Die Bestimmungsmethode beruht darauf, daß kleine Mengen der Diacetonsorbose bei Zimmertemperatur in 40%iger Schwefelsäurelösung in 2 Std vollständig zu Sorbose und Aceton hydrolysiert werden. Die Bestimmung von Aceton, Sorbose, Mono- und Diacetonsorbose nebeneinander geschieht folgendermaßen: 3 g Mischung werden in 200 ml Wasser gelöst: 1. In je 10 ml der Probe wird freies Aceton mit der Hydroxylaminmethode und die freie Sorbose nach der BERTRAND-Methode bestimmt; 2. Zu 10 ml Lösung werden 20 ml 60%ige Schwefelsäure zugefügt; nach 2stündigem Stehen wird mit Lauge neutralisiert und dann Aceton und Sorbose nach den obigen Methoden bestimmt. — Ein Verfahren zur Herstellung von 2,3-Monoacetonsorbose wird ausführlich beschrieben. MARTHA WILDAU.

Eine papierchromatographische Methode zur quantitativen Bestimmung von reduzierenden Oligosacchariden wurde von W. H. WADMAN, G. J. THOMAS und A. B. PARDEE² in Anlehnung an Arbeiten von R. J. BAYLY und E. J. BOURNE³ entwickelt. Während die genannten Autoren die Oligozucker in ihre N-Benzylglycosylamine überführten und damit Verbindungen mit gut definierten R_f-Werten

¹ Ž. prikl. Chim. (J. angew. Chem.) **27**, 1131—1132 (1954) [Russisch]. Univ. A. A. Ždanov, Leningrad.

² Analyt. Chemistry **26**, 1192—1195 (1954). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

³ Nature (London) **171**, 385 (1953).

erhielten, benutzen Verff. N-(1-Naphthyl)-äthylendiamindihydrochlorid (NAD) für den gleichen Zweck. Eine 0,1—4% Zucker enthaltende Lösung wird mit dem gleichen Volumen einer 10% igen Lösung von NAD in einer Mischung von Triäthylamin-Äthanol-Wasser (5:4:1) gemischt. 5 μ l dieser Mischung werden auf Whatman Nr. 1-Papier gebracht und dieses 30 min auf 100° C erhitzt. Bei der darauffolgenden 18stündigen absteigenden Chromatographierung mit 1-Butanol-Äthanol-Wasser-Ammoniak (40:12:16:1) wandert das nichtumgesetzte NAD mit der Lösungsmittelfront, während die Zucker-Derivate gut ausgebildete Flecke mit eindeutigen R_f -Werten bilden, die auf dem bei Raumtemperatur getrockneten Chromatogramm infolge ihrer starken Fluoreszenz gut lokalisiert werden können. Die markierten Flecke werden ausgeschnitten und mit 5 ml 1% iger $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ -Lösung eluiert. Durch Vergleich der Intensität ihrer Fluoreszenz mit der von Vergleichslösungen bekannten Gehaltes kann ihre Menge ermittelt werden. Die Arbeit enthält Anwendungsbeispiele für Hydrolysate komplexer Saccharide. K. SÖLLNER.

Nichtreduzierende Glucoside und andere Kohlenhydratverbindungen lassen sich auf Papierchromatogrammen nach J. A. CIFONELLI und F. SMITH¹ mittels Perjodat sichtbar machen. Dieses bewirkt die oxydative Abspaltung der α -Glykolgruppe und wird dabei selbst zu Jodat reduziert. Bei anschließendem Besprühen mit Benzidin wird dieses durch das unveränderte Perjodat unter Bildung eines blauen Farbstoffes oxydiert, so daß die Glucoside als weiße Flecke auf blauem Grund erscheinen. Die Sichtbarmachung der genannten Substanzen kann durch drei verschiedene Verfahren erfolgen, wobei folgende Reagentien benötigt werden: Benzidin-Reagens A aus gleichen Volumen äthanolischer 0,1 m Benzidinlösung und 0,8 n Salzsäure (BRA); Benzidin-Reagens B aus 10 Vol 0,1 m Benzidinlösung in 50 Vol% igem Äthanol, 2 Vol Aceton und 1 Vol 0,2 n Salzsäure (BRB). Zur Entwicklung der Papierchromatogramme wird eine Mischung von tert. Amylalkohol, n-Propanol und Wasser (4:1:1,5) verwendet. Nachdem zunächst die an der Luft getrockneten Chromatogramme mit 1 ml gesätt. wäßriger Kaliummetaperjodatlösung auf 40 bis 50 Quadrat Zoll besprüht wurden, wird bei Verfahren 1 mit BRB behandelt, wobei die eingangs beschriebene Reaktion auftritt. Während Zuckeralkohole, Lactone, freie Zucker und manche Methylzucker bereits nach 2 min mit Perjodat reagieren, erfolgt die Oxydation von Glucosiden, nichtreduzierenden Oligosacchariden und Polysacchariden erst nach 6 min. Bei Verfahren 2 wird das zunächst nach 1 (mit BRB) vorbehandelte Chromatogramm mit BRA besprüht und 1 min auf 110° C erhitzt. Ketone erscheinen hierbei als gelbe Flecke auf grauem, nach einigen Tagen braun werdendem Grund. Nach Verfahren 3 wird das nach 1 entwickelte Chromatogramm 1 min auf 110° C erhitzt und dann mit BRA besprüht. Aldosen erscheinen blau auf grauem Grund, während nichtreduzierende Kohlenhydrate keine Reaktion ergeben. In 2 Tab. ist das analytische Verhalten zahlreicher reduzierender und nichtreduzierender Kohlenhydrate dargestellt. K. SÖLLNER.

Scillirosid (SD) und sein Aglucon Scillirosidin (SN) können nach F. DYBING, O. DYBING und K. BRISEID JENSEN² papierchromatographisch getrennt und nachgewiesen werden. Bei Anwendung des von K. B. JENSEN³ mitgeteilten Verfahrens betragen nach der Entwicklung mit Chloroform-Wasser-Methanol (10:10:2) (I) die R_f -Werte für SD 0,15, für SN 0,85. Wird mit Chloroform-Formamid (II) 24 Std lang entwickelt, so bewegt sich SD 5—6 cm, während SN mit der Lösungsmittel-

¹ Analyt. Chemistry **26**, 1132—1134 (1954). Univ. St. Paul, Minn. (USA).

² Acta pharmacol. toxicol. [Kopenhagen] **10**, 93—100 (1954). Univ. Oslo.

³ Acta pharmacol. toxicol. [Kopenhagen] **8**, 110 (1952); **9**, 66, 99 (1953); vgl. diese Z. **139**, 71 (1953); **141**, 394 (1954); **145**, 369 (1955).

front wandert. Durch Besprühen der Chromatogramme mit 25%iger äthanolischer Trichloressigsäure und 10 min langes Erhitzen auf 100° C erscheinen beide Substanzen als im UV-Licht gelb fluoreszierende Flecke, wobei mit dem System I noch 5 µg, mit II noch etwas geringere Mengen nachweisbar sind. Nach Tränken mit gesättigter Antimontrichlorid-Chloroformlösung und kurzem Erhitzen auf 90° C werden noch 1 µg SD und SN als gelbe Flecke mit intensiv gelbgrüner UV-Fluoreszenz sichtbar. Zur Durchführung des Steroidtestes nach LIEBERMANN werden die auf einer Glasplatte liegenden Papierchromatogramme mit einer Mischung aus konz. Schwefelsäure und Acetanhydrid (1 + 25) betupft. 5–10 µg SD oder SN sind noch durch deutliche Blaufärbung zu erkennen. — Zur Isolierung von SD und SN aus organischem Material (Mageninhalt, Leber usw.) wird dieses fein zerkleinert mit der 5fachen Menge 96%igem Äthanol unter Zusatz von Weinsäure 24 Std lang maceriert. Nach der Filtration wird der Rückstand mit der gleichen Menge Äthanol 15 min unter Rückfluß zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen filtriert. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand wird in absolutem Alkohol aufgenommen. Das Filtrat dieser Lösung wird nach dem Abdampfen im Vakuum in Wasser gelöst. Bei Anwesenheit von Fett wird die beim Lösen in Wasser entstandene Emulsion mit soviel (etwa 50%) Methanol versetzt, daß die Dichte der Wasser-Methanollösung geringer wird als die des Fettes, welches nun durch Zentrifugieren getrennt werden kann. Schließlich wird die klare wäßrige Lösung mit 20% Isopropylalkohol enthaltendem Chloroform ausgeschüttelt. Die getrockneten Auszüge werden im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand wird wieder in Wasser gelöst, die Lösung mit Bleihydroxyd geschüttelt, filtriert und das Filtrat erneut mit dem Lösungsmittel extrahiert. Die hierbei erhaltenen Auszüge werden nach dem Einengen im Vakuum papierchromatographiert.

K. SÖLLNER.

Für den Nachweis und die Bestimmung von aromatischen Nitroverbindungen empfehlen E. WOLTHUIS, S. KOLK und L. SCHAAAP¹ die Reduktions-Diazotierungsmethode, für die sie genaue Arbeitsvorschriften geben. Das Verfahren ist vorwiegend für *Mononitroverbindungen* geeignet, die kein Jod enthalten dürfen. *Dinitroverbindungen* mit Nitrogruppen am gleichen Kern sind nicht bestimmbar, da die entstehenden *Phenyldiamine* mit Nitrit unvollständig reagieren und Nebenreaktionen ergeben. *Nitramine* lassen sich ohne vorangehende Reduktion titrieren. Da beim Diazotieren unlösliche Diazoaminoverbindungen entstehen, muß bei höherer Mineralsäurekonzentration und so rasch als möglich bei niedrigerer Temperatur als gewöhnlich titriert werden. — *Ausführung der Bestimmung.* Man wägt etwa 0,5 g Substanz ein, löst wenn nötig unter Erwärmen in 25 ml Eisessig, versetzt mit 10 ml konz. Salzsäure und 25 ml Wasser und erhitzt das Gemisch bis nahe zum Sieden. In mehreren Portionen gibt man nun 5 g Zinkstaub zu und erhält am Rückflußkühler 20–30 min im leichten Sieden. Falls die während der Reduktion entstandene Färbung nicht verschwindet, setzt man noch etwas Zink zu und erhitzt ein wenig länger. Das unveränderte Zink entfernt man durch Filtration (kleiner BÜCHNER-Trichter) des noch heißen Reaktionsgemisches und spült den Kolben mehrmals mit heißem Wasser in kleinen Einzelmengen nach. Filtrat und Waschflüssigkeit bringt man in einen Becher, fügt 1–2 g Natriumbromid (als Beschleuniger der Diazotierung) hinzu und läßt auf 15–20° C abkühlen. Das Endvolumen soll 200–250 ml betragen. Die Flüssigkeit muß gegen Kongorot deutlich sauer sein. Hierauf titriert man mit 0,1 n Natriumnitritlösung bis ein Tropfen auf Jodid-Stärkepapier sofort Blaufärbung hervorruft. Ein Leerwert der Reagentien wird gleichzeitig ermittelt. Er soll nicht mehr als 2–3 Tropfen Nitritlösung betragen.

¹ Analyt. Chemistry **26**, 1238–1240 (1954). Calvin College, Grand Rapids, Mich.

Die Einstellung der Natriumnitritlösung erfolgt mit Sulfanilsäure, die man 3 Std bei 120° C trocknet. Man löst 0,6927 g (0,004 mol) in 100 ml Wasser, das 0,2 g Natriumhydroxyd enthält, fügt 20 ml konz. Salzsäure hinzu, kühlt auf 15° C und titriert mit der Nitritlösung (7 g Natriumnitrit in 1000 ml) gegen Stärke-Jodidpapier. Gleicherweise titriert man die Blindprobe. Bei Schwerlöslichkeit der Nitroverbindung verwendet man weniger Wasser und mehr Eisessig. Kristallisierende Amine löst man in mehr Eisessig. — *Nachweis aromatischer Nitroverbindungen.* Man löst 1—2 Tropfen Flüssigkeit oder die entsprechende Menge fester Substanz in 3 ml oder mehr Eisessig, fügt 1 ml konz. Salzsäure und 3 ml Wasser zu, dann etwa 1 g Zinkstaub und kocht etwa 5 min, bis zur vollständigen oder fast vollständigen Entfärbung. Nach dem Filtrieren kühlt man auf 10—20° C ab und versetzt unter Schütteln mit 3—5 Tropfen 0,1 n Natriumnitritlösung. Nach gutem Schütteln bringt man 1 Tropfen der Reaktionslösung auf ein mit R-Salzlösung getränktes Filterpapier. Färbung, gewöhnlich Rotfärbung, ist beweisend für eine aromatische Nitroverbindung, aber gelegentlich auch für eine *Nitroso-, Azoxy- oder Hydrazo-verbindung*, die gleichfalls diazotierbare Amine liefern. Wenige Milligramme sind so feststellbar. Die R-Salzlösung enthält 2% R-Salz und 5% Natriumcarbonat.

H. FREYTAG.

Die Identifizierung von Phenolen durch Rundfilterpapierchromatographie beschreibt J. BARNABAS¹. Die zu prüfenden Stoffe werden in Mengen von 5 µl 1% iger alkoholischer Lösungen auf eine Whatman-Papier Nr. 1-Scheibe von 27 cm $\varnothing$ aufgetragen und nach bekanntem Verfahren mit der oberen Phase eines Gemisches von 1-Pentanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) entwickelt. Beim Besprühen des an der Luft bis zum Verschwinden des Essigsäuregeruches getrockneten Papierchromatogrammes mit einer 0,1% igen Lösung von 2,6-Dichlorphenolindophenol (DI) in neutralem 95% igem Äthanol erscheinen auf bläulichem Grunde *Salicylsäure*, *Benzoessäure* und *Zimtsäure* als rote Flecke, *Gallussäure*, *Hydrochinon* und *Resorcin* bleichen aus, während sich *Pikrinsäure* und *p-Nitrophenol* gelbgrün färben. Wird der Lösung von DI Silbernitrat zugesetzt und dieses Reagens aufgesprüht, so färben sich *Gallussäure* und *Resorcin* braun, *Hydrochinon* schwarz, die übrigen Stoffe behalten ihre frühere Färbung.

K. SÖLLNER.

Zur Mikroanalyse von Phenolen haben B. T. COMMINS und R. L. COOPER² die chromatographische Methode von R. L. COOPER³ verwendet. Man methyliert das zu untersuchende Phenolgemisch und chromatographiert an Aluminiumoxyd unter Verwendung von Cyclohexan als Lösungsmittel. Sind nur Phenole in der Untersuchungssubstanz vorhanden, kann man auch Silicagel als Adsorptionsmittel verwenden. Die Identifizierung der Verbindungen erfolgt durch Absorptionsspektrum und Lage auf der Säule. Die Methode arbeitet schneller und genauer als die Papierchromatographie, ist den colorimetrischen Methoden durch Spezifität überlegen und ermöglicht eine leichtere Trennung der Phenole an Al_2O_3 durch die Methylierung als die Chromatographie reiner Phenole. Allerdings kann man nicht unterscheiden zwischen reinen Phenolen und Methoxylgruppen enthaltenden, wie z. B. Brenzcatechin und Guajacol. Die Methode wurde zur Untersuchung von Zigarettenrauch verwendet.

K. BRODERSEN.

Die Bestimmung von Guajacol (I) neben großen Mengen Brenzcatechin (II) ist nach D. H. ROSENBLATT, M. M. DEMEK und J. ERSTEIN⁴ auf Grund der Tatsache

¹ Naturwissenschaften 41, 453—454 (1954).

² Chem. and Ind. 1954, 1110 (1954). Sir J. Cass Coll. London E. C. 3 und St. Bartholomew's Hosp. London E. C. 1.

³ Chem. and Ind. 1953, 516.

⁴ Analyt. Chemistry 26, 1655—1656 (1954). Army Chemical Center, Md. (USA).

möglich, daß das Kondensationsprodukt von I mit 4-Aminoantipyrin und Kalium-eisen(III)-cyanid bei 460 m μ ein Absorptionsmaximum besitzt, welches dem analog hergestellten Reaktionsprodukt mit II fehlt. Zur Herstellung einer Eichkurve werden je 250 ml einer 2,5 $\cdot$ 10⁻⁴ molaren II-Lösung mit bekannten, zwischen 0 und 0,6 ppm. variierenden Mengen von I versetzt. Diese Lösungen werden durch Zusatz von 2 ml Natriumcarbonatlösung unter Verwendung eines pH-Meters mit Kalomel- und Glaselektrode auf pH 10,45–10,55 eingestellt. Dann gibt man genau 2 ml frisch bereitete 0,75₀ige 4-Aminoantipyrinlösung zu und rührt gut. Unter Weiterführen werden 5 ml 2₀ige K₃Fe(CN)₆-Lösung zugefügt, nach einigen Sekunden gibt man 12 ml Chloroform zu und rührt 5 min lang weiter. Die Chloroformschicht wird nach 30 sec langem Absetzen abpipettiert und ihre Extinktion bei 460 m μ gemessen. Auf gleiche Weise werden die zu analysierenden I-II-Gemische behandelt. Das BEERSche Gesetz ist in dem angegebenen Konzentrationsbereich erfüllt.

K. SÖLLNER.

Über die papierchromatographische Trennung der Naphtholsulfosäuren und der inneren Anhydride der 1-Naphthol-8-sulfosäuren, der sogenannten Sultone, berichtet J. LATINÁK¹ in Fortführung früherer Untersuchungen². Die neuen Versuche erstrecken sich auf die beiden Naphthole, 15 technische Naphtholsulfosäuren und 3 Sultone, die als Zwischenprodukte in der Farbstoffindustrie von Bedeutung sind. Alle Naphtholsulfosäuren lassen sich gut voneinander trennen. Die Größe der R_F-Werte hängt wesentlich von der Zahl der Sulfosäuregruppen ab. Die Trisulfosäuren bewegen sich nur wenig vom Start, die Disulfosäuren wandern weiter, dann folgen die Monosulfosäuren und die größten R_F-Werte haben die nicht-substituierten Naphthole. Bei den Sultonen ist die Zahl der *freien* Sulfosäuregruppen für den R_F-Wert maßgebend. Die 1-Naphtholmonosulfosäuren haben um so größere R_F-Werte, je näher die OH- und SO₃H-Gruppen benachbart sind, demnach hat das 1,2-Derivat den größten, das 1,5-Derivat den kleinsten R_F-Wert, die anderen liegen dazwischen. Die Naphthylaminsulfosäuren besitzen durchwegs kleinere R_F-Werte als die entsprechenden Naphtholsulfosäuren. Das papierchromatographische Verfahren eignet sich sehr gut zur Reinheitsprüfung der technischen Produkte. — *Ausführung.* Die Chromatographie erfolgt bei konstanter Temperatur (19,0° C) absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 oder 4 bzw. Sch. & Sch. 2043 b. Die Proben werden im allgemeinen als 1–5₀ige Lösungen in Wasser-Pyridingemisch 1:1 (die Sultone als wäßrige Lösungen) aufgetragen, zur Entwicklung wird das Gemisch n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) oder besser n-Butanol-Pyridin-Wasser (3:1:1) angewendet. Zur Sichtbarmachung der Tüpfel dient die Beobachtung im UV-Licht (wobei fast alle Verbindungen stark fluorescieren), oder die Erzeugung von Azofarbstoffen mit diazotiertem p-Nitroanilin. Zur Identifizierung der einzelnen Verbindungen läßt man Lösungen reiner Präparate mitlaufen.

H. FREYTAG.

Die Identifizierung von Nitrophenolen in Form ihrer Aryloxyessigsäuren führt man nach J. GRUNDY³ in Anlehnung an das von C. KYM⁴ mitgeteilte Verfahren wie folgt durch: Zu 2 ml wasserfreiem Methanol in einem 5 ml-Kolben mit Rückflußkühler fügt man 0,005 g-Atome Natrium und erwärmt im Ölbad bis zur völligen Lösung. Dann setzt man 0,005 Mole des zu untersuchenden Nitrophenols in 1 ml Methanol zu und erhitzt bei einer Ölbadtemperatur von 100–140° C, bis alles Methanol entfernt ist. Man gibt 3 ml Triäthylenglykol zu, erhitzt, bis alles feste

¹ Chem. Listy 48, 1354–1359 (1954). [Tschechisch.] Ostböhmisches chem. Werke, Pardubice-Rybitví.

² LATINÁK, J.: Chem. Listy 48, 843 (1954); vgl. diese Z. 147, 228 (1955).

³ Analyst (London) 79, 523–524 (1954). Techn. College, Blackburn (England).

⁴ J. prakt. Chem. [2] 55, 113, 222 (1897).

Natriumsalz gelöst ist, versetzt mit einem kleinen Überschuß Äthylchloracetat (oder höherem Ester) und erhitzt das Gemisch 30 min lang auf 180–200° C. Dann gibt man das heiße Gemisch in 20 ml einer 10 Gew.-%igen Schwefelsäure, die sich in einem 50 ml-Kolben befindet, und erhitzt unter Rückfluß. Das Ende der Hydrolyse ist am Verschwinden des öligen Esters zu bemerken. Die klare Lösung wird abgekühlt und die reine kristallisierte Säure mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet.

H. FREYTAG.

Die Identifizierung aromatischer Amine mittels Farbreaktionen führt man nach J. BERTETTI¹ durch Anwendung von fünf Reagentien aus². Die Methode wurde an 45 Aminen (auch an den in der Aminogruppe substituierten) geprüft. Der Analysengang und das Verhalten der Amine sind dem Original zu entnehmen. Zur Ausführung genügt jeweils 1 ml alkoholische 1%ige Aminolösung. *Reagens 1* besteht aus einem Gemisch von 2 Vol.-T. einer wäßrigen 5%igen Kaliumdichromatlösung und 1 Vol.-T. konz. Schwefelsäure. 0,5 ml von diesem Reagens läßt man der Prüflösung längs der Wandung des geneigten Glases aus einer Pipette zufließen und beobachtet die Färbung, nachdem sie sich stabilisiert hat. *Reagens 2* ist eine 2%ige Eisen(III)-chloridlösung. Nach Zusatz von 0,5 ml zur Prüflösung schüttelt man um und stellt die Färbung fest, wenn sie unverändert bleibt. *Reagens 3* ist eine 10%ige wäßrige Kaliumnitratlösung. Man versetzt die Aminlösung mit 0,5 ml dieses Reagens und läßt 0,5 ml konzentrierte Schwefelsäure zufließen. *Reagens 4* besteht aus einer 8%igen wäßrigen Furfurollösung, der einige Tropfen 20%iger Essigsäure zugesetzt werden. Aus gleichen Teilen Wasser und gesättigter wäßriger Bromlösung wird *Reagens 5* stets frisch hergestellt. Die auf Zusatz von 0,5 ml Reagens ohne Umschütteln entstehenden Niederschläge werden beobachtet.

H. FREYTAG.

Das papierchromatographische Verhalten von 45 aromatischen Aminen beschreibt J. BERTETTI³ im Anschluß an eine frühere Veröffentlichung⁴. 20 µg der Amine in 0,5%iger alkoholischer Lösung werden auf Sch. & Sch.-Papier Nr. 2040b mit n-Butanol, das mit 25%iger Essigsäure gesättigt ist, aufsteigend chromatographiert. Zur Sichtbarmachung der Tüpfel wurden die Reaktionen mit 5%iger Lösung von Kaliumdichromat in 40%iger Schwefelsäure, ferner mit 8%iger wäßriger Furfurollösung, mit 10%iger wäßriger Eisen(III)-chloridlösung und mit 0,2%iger alkoholischer Ninhydrinlösung geprüft. Von diesen Reagentien ist das Dichromatreagens am besten geeignet, weil es mit den einzelnen Aminen verschiedene Färbungen gibt, die den Nachweis nebeneinander ermöglichen. In einer umfangreichen Tabelle sind die R_f -Werte der Amine und die mit den 4 Sprühreagentien entstehenden Färbungen zusammengestellt. Die R_f -Werte sind weitgehend von der Struktur der Amine abhängig. Anilin z. B. hat einen R_f -Wert von 0,74, Diphenylamin aber wandert mit der Lösungsmittelfront. Benzidin weist $R_f = 0,62$ auf, Diphenylbenzidin jedoch wandert ebenfalls mit der Lösungsmittelfront. p-Phenylendiamin hat $R_f = 0,49$, Phenyl-p-phenylendiamin $R_f = 0,81$, N,N-Diphenyl-p-phenylendiamin $R_f = 1$. Alkylgruppen wirken sich ähnlich aus, wenn auch nicht so ausgeprägt, zum Beispiel: Anilin $R_f = 0,74$, Methylanilin $R_f = 0,79$, Dimethylanilin $R_f = 0,81$, Äthylanilin $R_f = 0,80$, Diäthylanilin $R_f = 0,82$, Dimethyl-p-phenylendiamin $R_f = 0,58$, Tetramethyl-p-phenylendiamin $R_f = 0,73$. Die Stellung der Aminogruppen übt ebenfalls einen merklichen Einfluß aus: o-, m- und p-Phenylendiamin haben $R_f = 0,65$, 0,39 und 0,49. Die Diaminonaphthaline bilden zwei Gruppen, entsprechend den Aminogruppen in 12- und 1,8-Stellung. Die Trennung

¹ Ann. Chimica **44**, 313–320 (1954). Ingen.-Fak., Univ. Genua (Italien).

² Vgl. J. BERTETTI, Ann. Chimica **43**, 351 (1953); vgl. diese Z. **143**, 368 (1954).

³ Ann. Chimica **44**, 495–499 (1954).

⁴ Ann. Chimica **44**, 313 (1954); vgl. das vorstehende Referat.

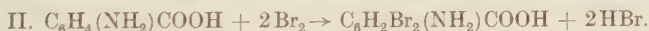
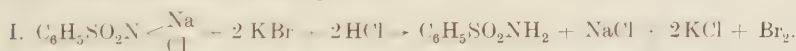
von Aminen mit ähnlichen oder gleichen R_f -Werten ist möglich, wenn die Tüpfel mit dem Reagens verschiedene Färbung liefern. Zum Beispiel Benzylanilin und Äthylbenzylanilin (beide $R_f = 1$) sind erkennbar, weil der Tüpfel des ersten sich mit Dichromat-Schwefelsäure blau färbt, der des zweiten Amins aber einen roten Ring um den blauen Fleck ausbildet.

H. FREYTAG.

Farbreaktionen einiger mercurierter Arylamine mit Nitriten untersuchen I. M. KORENMAN und A. A. BELJAKOV¹. Die Versuche erstrecken sich auf 5 Anilinverbindungen (Methyl-, Äthyl-, Dimethyl-, Diäthyl-, Äthylbenzyl-Anilin) sowie deren Hg-organische Verbindungen (Methyl-, Äthyl-, Dimethyl-, Diäthyl-, Äthylbenzyl-Aminophenylquecksilberacetat). Die Färbungen befolgen das LAMBERT-BEERSsche Gesetz, sie wurden in Reihenbestimmungen colorimetriert oder mit Lichtfilter 436 mμ photometriert. Die Reaktionen können zur Bestimmung sowohl der Nitrite als auch der mercurierten Arylamine verwendet werden. Mercurieren steigert die Empfindlichkeit auf das 2,5—16fache. Man kann bis hinab zu 0,08 μg NO₂ mit Hg-organischen Verbindungen, bei metallorganischer Synthese bis 0,5 μg an tertiären sowie (weniger empfindlich) bis 4 μg an sekundären Arylaminen in 5 ml Lösung nachweisen. — *Ausführung. Nitrite.* Zu 4 ml wäßriger Prüflösung werden 0,1 ml Reagens (10 mg ml Hg-organische Verbindung oder Arylamin in 10% iger Essigsäure) und 1 ml 1% ige Essigsäure zugefügt; man erhitzt 5 min auf 85 bis 100 °C und setzt nach dem Abkühlen auf je 1 ml 1% ige Essigsäure 0,1 ml 20% ige Natriumacetatlösung hinzu. Die Färbungen halten sich einen Monat lang. Halogenide, Nitrate, Sulfate, Sulfite, 25fache Wassermenge (im Sulfid) stören nicht. *Arylamine.* 4 ml Arylaminlösung werden mit 0,1 ml Quecksilberacetatlösung (15 mg ml) in 1% iger Essigsäure versetzt, auf 85—100 °C 5 min lang erhitzt, dann gibt man 0,1 ml 1% ige Nitritlösung zu, erhitzt weitere 5 min, versetzt nach dem Abkühlen mit 0,4 ml 20% iger Na-Acetatlösung und colorimetriert. Anilin, Alkohol, Aceton sowie 5–10facher Phenolüberschuß stören nicht. Fehlende Hg-organische Verbindungen können durch 20 mg Hg-Acetat + 6 mg Dimethylanilin in 1 ml 1% iger Essigsäure ersetzt werden.

A. V. WILPERT.

Die potentiometrische Titration aromatischer Amine und Phenole durch Bromierung unter Verwendung von Chloramin B beschreibt A. SINGH². Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:



Eine gewogene Menge der Analysensubstanz wird in verdünnter Säure oder in verdünntem Alkali gelöst, die Lösung wird mit 10 ml 20% iger jodid- und jodatfreier Kaliumbromidlösung und mit 10 ml Salzsäure versetzt und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Als Oxydo-Reduktionselektrode wird eine blanken Platinfolie in die Titrationslösung gebracht, die über eine Agar-Agar-Kaliumchloridbrücke mit einer Kalomel-Elektrode verbunden ist. Zur Ablesung der EMK dient ein Potentiometer. Unter ständigem mechanischem Rühren wird aus einer Bürette 0,1 n Chloramin B-lösung zugetropft. Die EMK der Kette steigt bei Zusatz der Chloraminlösung bis zur Erreichung des Äquivalenzpunktes zu einem Maximum an, um dann mit einem scharfen Sprung abzufallen. Verf. führte die Bestimmung von *Anthranilsäure*, *Sulfanilsäure*, *m-Aminobenzoesäure*, *m-* und *o-Nitranilin*, *8-Oxychinolin*, *Phenol*, *p-*, *m-* und *o-Toluidin*, *p-Chlorphenol* und *m-Kresol* durch.

K. SÖLLNER.

¹ Ž. anal. Chim. 9, 220—223 (1954) [Russisch]. Inst. Arbeitshyg., Gorki.

² J. Indian chem. Soc. 31, 609—611 (1954). Panjab Univ. Hoshiarpur (Indien).

Zur Reinheitsprüfung der Naphthylaminsulfonsäuren, die als Zwischenprodukte bei der Farbstoffherstellung dienen, eignet sich nach J. LATINÁK¹ am besten die Papierchromatographie, mit der insbesondere auch isomere Verunreinigungen oder andere unerwünschte Beimengungen festgestellt werden können. Zur Chromatographie sind die Papiere Whatman Nr. 1 oder Nr. 4 und Sch. & Sch. Nr. 2043b gleich gut verwendbar, die in der Ziehrichtung zu 15 · 36 cm-Streifen geschnitten werden. 1%ige Vergleichslösungen werden aus besonders gereinigten Naphthylaminsulfonsäuren in 50%igem wäßrigem Pyridin hergestellt. Auf die 10 cm vom Rande entfernte Startlinie werden 2–4 µl der zu prüfenden Lösungen so aufgetragen, daß der Tüpfeldurchmesser nicht mehr als 5 mm und die Entfernung der Tüpfel voneinander 2 cm beträgt. Die chromatographisch günstigste Stoffmenge wurde zu 5–25 µg für eine Komponente gefunden. Tüpfel mit mehr als 50 µg führen zur Streifenbildung und daher schlechten Trennung. Die vorbereiteten Papierstreifen werden zweckmäßig über Nacht im Chromatographierglaszylinder belassen und dann mit Lösungsmittelgemischen absteigend bei etwa 19° C entwickelt. Wenn die Lauflänge 25 cm beträgt, wird die Chromatographie beendet. Die Papierstreifen trocknet man an der Luft bei Raumtemperatur. Zur Entwicklung dienen 4 : 1 : 5-Gemische von n-Butanol, Essigsäure und Wasser sowie ein 3 : 1 : 1-Gemisch von n-Butanol, Pyridin und Wasser. Das erste wird erst nach 14-tägigem Stehen benutzt, um das Veresterungsgleichgewicht zu erreichen. Die Butanolphase dient zum Auswaschen, die wäßrige zur Sättigung der Chromatographierkammeratmosphäre. Das zweite (einhásige) Gemisch wird für beides verwendet. Das Sichtbarmachen der Tüfel ist sowohl durch die Fluorescenz der Naphthylaminsulfonsäuren, als auch durch Kuppeln mit diazotiertem p-Nitranilin möglich. Dieses Reagens stellt man durch Diazotieren von 10 ml 0,02 m p-Nitranilinlösung in verdünnter Salzsäure mit 2 ml 0,1 n NaNO₂-Lösung, Neutralisieren mit 15 ml 30%iger Natriumacetatlösung (gegen Kongopapier) und Verdünnen mit Eiswasser auf 100 ml her. Es wird nur frisch bereitetes Reagens versprüht. Fluorescenzanalytisch lassen sich 0,1–0,2 µg Naphthylaminsulfonsäuren, durch Kupplung nur 0,4–0,6 µg erfassen. Nachstehend sind die untersuchten 1- und 2-Naphthylamin-sulfonsäuren nur mit ihren Substituenten angeführt, wobei die R_f-Werte in der Reihenfolge der vorgenannten Lösungsmittelgemische in () stehen: 1–3, 6, 8 (0,00; 0,00); 1–3, 6 (0,02; 0,04); 1–3, 8 (0,14; 0,08); 1–2 (0,57; 0,63); 1–3 (0,41; 0,47); 1–4 (0,29; 0,42); 1–5 (0,26; 0,44); 1–6 (0,34; 0,48); 1–7 (0,46; 0,54); 1–8 (0,69; 0,63); 1 (0,95; 0,92); 2–3, 6 (0,03; 0,08); 2–4, 8 (0,04; 0,06); 2–1, 6 (0,03; 0,05); 2–6, 8 (0,03; 0,04); 2–1 (0,55; 0,61); 2–5 (0,34; 0,47); 2–6 (0,32; 0,46); 2–7 (0,33; 0,47); 2–8 (0,48; 0,51); 2 (0,94; 0,92).

H. FREYTAG.

Eine allgemein anwendbare Methode zur volumetrischen Bestimmung von Diazoverbindungen, insbesondere von festen Salzen entwickelten L. NICOLAS, P. LAMPEL und J. PLANTÉ². Bei einem mit einem weiten (A) und drei engeren Tuben (B, C, D) versehenen Glaskolben von 500 ml Inhalt wird auf A ein Rückflußkühler aufgesetzt der durch ein Glasrohr mit einem mit Natronlauge beschickten Azotometer verbunden ist. Durch B führt ein Einleitungsrohr für Kohlendioxyd, C trägt einen Stopfen mit Thermometer. Während D zunächst mit einem Gummistopfen verschlossen ist, werden in dem Kolben 150 ml 30%ige Schwefelsäure, in der 0,5 g Kupfer(I)-chlorid gelöst sind, 10 min lang zum Sieden erhitzt, um die in ihr gelöste Luft völlig zu entfernen. Dann wird D nach Entfernung des Gummistopfens mit

¹ Chem. Listy 48, 843–846 (1954) [Tschechisch]. Ostböhmisches chem. Werke, Pardubice-Rybitví.

² Chim. analytique 36, 238–241 (1954). Comp. Franç. Matières colorantes, Usine d'Oissel (Frankreich).

einem durchbohrten Stopfen verschlossen, durch den ein am unteren Ende hakenförmig gebogener Glasstab führt, an dem in einem mit einer Öse versehenen Glasröhrchen die zu analysierende Substanz hängt. Deren Gewicht soll so bemessen sein, daß bei der darauffolgenden Zersetzung etwa 20 ml Stickstoff entwickelt werden. Nun wird der Kolben bis zur völligen Entfernung von Luft mit CO_2 durchspült und daraufhin der Glasstab von D mit der zu analysierenden Substanz soweit gesenkt, daß diese von der Schwefelsäure völlig bedeckt ist. Der sich entwickelnde Stickstoff wird durch langsames Einleiten von CO_2 restlos in das Azotometer getrieben und nach bekanntem Verfahren gemessen. Aus einer Tabelle ist zu entnehmen, daß die hierbei gewonnenen Analysenergebnisse mit den durch andere Verfahren erhaltenen Befunden übereinstimmen. Das Original enthält eine Skizze der Apparatur.

K. SÖLLNER.

Die papierchromatographische Trennung von cis- und trans-Azobenzol gelingt nach M. FRANKEL und R. WOLOVSKY¹ mit 40%iger Essigsäure als Elutionsmittel. Die cis-Form wandert mit diesem als gelber Tüpfel, während das trans-Azobenzol stationär bleibt. Die Methode ist auch auf die Trennung beider Isomeren aus einer Transazobenzollösung, die auf Papier gebracht und feucht bestrahlt wird (UV oder Sonne), anwendbar. Die cis-Form tritt als gelbes Band auf.

H. FREYTAG.

Zur colorimetrischen Bestimmung kleiner Mengen Hydrazobenzol arbeiteten M. VEČEŘA und J. PETRÁNEK² eine neue Methode aus, die auf der Umlagerung von Hydrazobenzol in alkoholischer Salzsäure in Benzidin (p,p'-Diaminodiphenyl) und Diphenylin (o,p'-Diaminodiphenyl) beruht, die im Mengenverhältnis 7:3 entstehen. Durch Diazotieren beider Basen und Kuppeln mit MARSHALL-Salz³ (N-d-Naphthyl-äthylendiaminchlorhydrat) erhält man colorimetrierbare Färbungen. Der von Benzidin herrührende Farbstoff ist blau, der von der anderen Base violett. Man mißt die Summe der Farbintensitäten im Bereich der Absorptionsmaxima (etwa 580—620 m μ). — *Ausführung.* Man löst die Einwaage von getrocknetem Hydrazobenzol in 20 ml Äthanol und fügt 5 ml konzentrierte Salzsäure zu. Etwa abgeschiedene Kristalle löst man durch Zugabe einiger Tropfen Wasser. Die Lösung bewahrt man 90 min bei Raumtemperatur auf. Dann füllt man auf das gewünschte Volumen auf und pipettiert einen solchen aliquoten Teil zum Diazotieren, daß die Konzentration in den linearen Bereich der Eichkurve fällt (0–0,2 mg/10 ml). Zur Bestimmung neben Zinkoxyd, das bei der Herstellung von Hydrazobenzol verwendet wird, verfährt man ebenso, nur fügt man statt 5 ml 10 ml konzentrierte Salzsäure zu. Die Standardlösung von Benzidin erhält man durch Auflösen von 10,00 mg der Base in Salzsäure (1:10) und Verdünnen auf 200 ml. Zur Aufstellung der Eichkurve versetzt man 10 ml Benzidinlösung (mit 0,05 bis 0,5 mg Benzidin) in einem 250 ml-Meßkolben mit 5 ml Salzsäure (1:5), kühlt mit Eis und fügt unter Umschütteln 5 ml 0,5%ige Natriumnitritlösung zu. Nach 5 min gibt man 4 ml 2%ige Amidosulfonsäurelösung zu, schüttelt kräftig und versetzt nach 2 min mit 10 ml MARSHALL-Salzlösung (0,272 g in 250 ml Wasser). Nach Umschütteln füllt man zur Marke auf. Colorimetriert wird nach 90 min. Verf. verwendet das Lange-Photocolorimeter mit Grünfilter VG 2 und 100 ml-Küvetten. Die gefundenen Werte stimmen sehr gut mit den berechneten überein.

H. FREYTAG.

Über das polarographische Verhalten einiger aryl-aliphatischer Ketone hat C. CALZOLARI⁴ in einer systematischen Untersuchung sowohl die Abhängigkeit des

¹ Experientia (Basel) **10**, 367 (1954). Univ. Jerusalem (Israel).

² Chem. Listy **48**, 1351—1353 (1954) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. organ. Synthesen, Pardubice-Rybitví.

³ M. VEČEŘA: Chem. Listy **46**, 109 (1952).

⁴ Univ. degli Studi di Trieste, Facoltà di Scienze, [Ist. di Chimica] **1954** Nr.1, 16 S.

Halbstufenpotentials als auch die des Diffusionsstroms bei der Reduktion 10^{-3} m Lösungen von Tetrahydronaphthyl-2-methylketon (TNMK), 2-Naphthylmethylketon (NMK) und 3,4-Dimethoxyacetophenon (DMA) in BRITTON-ROBINSON-Pufferlösung mit 10% Isopropylalkohol an der Quecksilbertropfelektrode ($m^{2/3} t^{1/6} = 2,7$) gegen die gesättigte Kalomelektrode genau untersucht. Sämtliche beobachteten Stufenhöhen sind der Konzentration direkt proportional, $i_d h^{1/2}$ ist konstant. In saurer Lösung entspricht die Reduktion dem Übergang eines einzigen Elektrons, in alkalischer Lösung einer Zwei-Elektronen-Reduktion. Bei Zugabe von Gelatine tritt in TNMK-Lösungen bei pH 10,5 eine kleine Adsorptionswelle bei $E_{1/2} = 1,460$ V hinzu. Der Diffusionsstrom ist vom Alkoholgehalt abhängig. Die Versuchsdaten müssen im einzelnen dem Original entnommen werden.

K. CRUSE.

Sulfophthaleinfarbstoffe hat G. T. FRANGLEN¹ *chromatographisch und elektrophoretisch* auf ihre Reinheit in Zusammenhang damit geprüft, daß derartige Farbstoffe häufig zur Lokalisierung der Proteine auf den Elektropherogrammen angewendet werden. Die Farbstoffe werden in absolutem Äthylalkohol zu 2% gelöst, in üblicher Weise chromatographiert (Whatman-Papier 3 MM) oder elektrophoretisch untersucht (Whatman-Nr. 4, Veronalpufferlösung pH 8,6) und dann entweder bei Tageslicht oder im ultravioletten Licht bei 2537 Å analysiert. Zur Chromatographie wird das Papier zweckmäßig über Nacht mit tert. Amylalkohol und konz. Ammoniak äquilibriert und dann absteigend mit einem Gemisch beider Substanzen (200:50) entwickelt (26 Std bei 20 µl Probelösung). Die konz. Ammoniaklösung kann auch durch Eisessig ersetzt werden, wenn außerdem 50 Teile Wasser zugefügt werden. Die Untersuchung im ultravioletten Licht ließ bis zu 6 verschiedene Fremdstoffen erkennen. — Zur Elektrophorese (3 Std bei 8 V/cm) werden 5 µl-Proben verwendet. Hier konnten höchstens drei Fremdstoffen erkannt werden. Nach beiden Methoden wurden untersucht: Bromphenolblau, Bromkresolgrün, Chlorphenolrot, Bromphenolrot, Bromkresolpurpur, Bromthymolblau, Phenolrot, Kresolrot, Metakresolpurpur und Thymolblau. Die Tatsache, daß die Farbstoffe erhebliche Mengen an Verunreinigungen enthalten, kann bei ihrer Verwendung für die pH-Bestimmung von Bedeutung sein.

K. CRUSE.

5-Oxymethylfurfurol kann auf Grund seiner charakteristischen UV-Absorption (scharfes Maximum bei etwa 2840 Å, schwächere bei 2450 und 2300 Å) empfindlicher als polarographisch und einfacher als mit der SCHIFFSchen Base bestimmt werden. Jedoch ist die Deutung der Ergebnisse oft schwierig und unbefriedigend, da verwandte Verbindungen ebenfalls starke Absorptionsbanden im UV besitzen. J. H. TURNER, P. A. REBERS, P. L. BARRICK und R. H. COTTON² untersuchten daher deren Verhalten hinsichtlich der UV-Absorptionsänderungen. Die erwähnten Verbindungen kommen unter den Zersetzungsprodukten von Zuckern vor. Festes Lävulosedihydrat zeigt nach 1—2 Wochen Aufbewahrung im Kühlschrank keine merkliche Absorptionsänderung. Reine Lävuloselösungen ändern ihre Absorption mit der Temperatur zum Unterschied von Oxymethylfurfurol und absorbieren nach 12tägiger Aufbewahrung bei 5° C stärker. Die Differenzen zwischen den ursprünglichen und späteren Absorptionswerten ergeben die Absorptionskurve von Oxymethylfurfurol. Lösungen dieser Verbindungen weisen nach einigen Tagen stehen bei Raumtemperatur eine Kurve auf, die sich aus der eigenen Absorption und jener der entsprechenden Säure zusammensetzt. Eine handelsübliche sterilisierte Lävuloselösung zeigt eine kombinierte Lävulose-Oxymethylfurfurol-Oxy-

¹ Nature (London) 175, 134 (1955). St. George's Hospital Medical School, London.

² Analyt. Chemistry 26, 898—901 (1954). Holly Sugar Corp., Colorado Springs, Colo. (USA).

methylfuroinsäure-Absorptionskurve nach achttägigem Stehen bei Raumtemperatur. Die Absorption von Bis-(5-formyl-2-furfuryl)-äther in wäßriger Lösung ändert sich bei 20° C binnen 3 Wochen völlig analog der Oxydation von Oxymethylfurfuryl. Die neue Absorptionsbande hat ihren Höchstwert bei 250 bis 255 m μ . Die alkoholische Lösung der gleichen Verbindung ist nach 6 Wochen bei 20°C völlig in ihrer Absorption unverändert. — Zahlreiche andere Einzelheiten sind dem Original zu entnehmen.

H. FREYTAG.

Ein acidimetrisches Bestimmungsverfahren alkylsubstituierter 1-Methyl-4-piperidone haben A. K. RUŽENCEVA und T. D. PERVAČEVA¹ ausgearbeitet.

A) *Untersuchung reiner Präparate.* Man titriert 0,5 bis 0,6 g des zu untersuchenden Präparates in einem 100 ml fassenden Erlenmeyer-Kolben mit 0,5 n Salzsäure bis zum Farbumschlag von zugesetztem Bromkresolgrünindicator in Gelb. Nach Zugabe von 25 ml 5%iger Hydroxylammoniumchloridlösung wird die Probe 2 Std lang bei 80° C am Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt. Die bei der Oximbildung freigewordene Salzsäure wird mit 0,5 n NaOH-Lösung zurücktitriert, bis die bei einem Blindversuch festgestellte Umschlagsfarbe des Indicators erreicht ist. B) *Untersuchung eines technischen Präparates.* 0,6—0,7 g des zu untersuchenden Präparates werden in einem Scheidetrichter von 50 ml Inhalt mit 0,5 n Salzsäure gegen Bromkresolgrün bis zum gelben Farbumschlag titriert. Im Scheidetrichter erfolgt sodann ein zweimaliges Ausschütteln der Probe mit Äther (je 15 ml). Die wäßrige Phase wird in einem 100 ml fassenden Erlenmeyer-Kolben aufgefangen. Die Ätherphase wird 2 mal mit je 5 ml Wasser ausgewaschen und das Waschwasser dem wäßrigen Auszug beigelegt. Die Weiterverarbeitung des Wasserlöslichen erfolgt in der gleichen Weise wie bei der Untersuchung des reinen Präparates angegeben. Der Gehalt (%) an alkylsubstituiertem 1-Methyl-4-piperidon wird nach der Formel $(2b-a) \cdot M \cdot 100 / 2 \cdot 1000 \cdot K$, der Gehalt an alkylsubstituiertem 1-Methyl-4-methyliminopiperidin nach der Formel $(a-b) \cdot 2 \cdot M \cdot 100 / 2 \cdot 1000 \cdot K$ berechnet, wobei a den Verbrauch ml 0,5 n Salzsäure, b den Verbrauch ml 0,5 n NaOH-Lösung, M das Mol.-Gew. des zu untersuchenden Präparates und K die Einwaage (g) bedeuten. Die ausgearbeitete Methode haben die Verff. mit guten Resultaten auch auf 1,2,5-Trimethyl-6-äthyl-4-piperidon angewandt.

MARTHA WILDAU.

Zur Reinheitsbestimmung von Murexid scheiden J. H. MOSER und M. B. WILLIAMS² die Verbindung als Calciumsalzmonohydrat, $\text{CaC}_8\text{H}_5\text{N}_5\text{O}_6\text{H}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ab und wägen den Niederschlag nach dem Trocknen bei 110° C. Mehrere Analysen zeigten, daß der Reinheitsgrad verschiedener Murexidpräparate zwischen 70 und 100% schwankt. — *Ausführung.* Die Probe mit 40 bis 120 mg Murexid wird mit einigen Tropfen Wasser angeteigt. Dann gibt man 3,50 ml einer 1 m Calciumnitratlösung und 16,5 ml Wasser dazu und rührt bis alles gelöst ist. Von einer gegebenenfalls bleibenden Trübung wird abfiltriert. Unter gutem Rühren stellt man mit 0,2 n Natronlauge mit Hilfe eines pH-Meters den pH-Wert 8,5 ein. Nach dem Absitzen des Niederschlags (etwa 5 min) wird durch einen Glasfiteriegel abgesaugt, 3mal mit wenig Wasser gewaschen und bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. — Da etwa 0,5 bis 2% des Murexids gelöst bleiben, wird bei größeren Anforderungen an die Genauigkeit, der in Lösung gebliebene Anteil colorimetrisch bestimmt. Man gibt zum Filtrat 50 ml eines Boratpuffers (49,4 g Borsäure in 100 ml Wasser + 852 ml 0,2 n Natronlauge gelöst und auf 2 Liter aufgefüllt; pH $\sim$ 9) und verdünnt im Meßkolben auf 250 ml. Die Lichtabsorption dieser Lösung wird bei 485 m μ gegen dest. Wasser gemessen und der Gehalt an Murexid nach dem BEERSchen Gesetz

¹ Ž. anal. chim. 9, 304—307 (1954) [Russisch]. Inst., Sergo Ordžonikidze, Moskau.

² Analyt. Chemistry 26, 1167—1168 (1954). State College, Corvallis, Ore. (USA).

errechnet. Zur Ermittlung dieses Umrechnungsfaktors werden 125 mg eines möglichst reinen Murexidpräparates (gravimetrische Kontrolle) in 250 ml H_2O gelöst. In verschiedenen Mengen davon wird dann, wie oben beschreiben, die Absorption bestimmt.

G. DENK.

Bei der Polarographie des Chinins wird nach Untersuchungen von J. BARTEK, M. ČERNOCH und F. ŠANTAVÝ¹ der Chinolinkern reduziert. Bei der Polarographie des *Chininons*, bei welcher 2 Stufen gebildet werden, entspricht die negativere Stufe der Reduktion des Chinolinkerns, die positivere der Reduktion der Ketogruppe, bei *Chinotoxin* kommt es wahrscheinlich nur zur Reduktion der konjugierten Oxogruppe.

H. KURTENACKER.

IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel u. Gesundheitspflege bezügl. Methoden.

Eine Methode zur Mikrojodbestimmung in jodiertem Kochsalz haben H. FÜRER und M. STAUB² in Abänderung des gebräuchlichen Verfahrens nach L. W. WINKLER³ ausgearbeitet. Hierbei wird J^- zu JO_3^- oxydiert und das nach Zugabe von Jodid ausgeschiedene Jod mit Thiosulfat titriert. Das modifizierte Verfahren ergibt innerhalb kürzerer Zeit genauere Werte. Nach eingehenden Untersuchungen werden drei Punkte als wesentlich erkannt: 1. Durch Erhöhung der Einwaage auf 50 g kann mit 0,01 n Thiosulfatlösung titriert und dadurch ein schärferer Umschlag erzielt werden. 2. Der pH -Wert wird auf 5—5,5 eingestellt. 3. Das überschüssige Oxydationsmittel muß vollständig entfernt werden; bei Verwendung von Brom genügt 5 min dauerndes Kochen; letzte Spuren können durch Zusatz von Ameisensäure zerstört werden. — *Ausführung.* 50 g des gut gemischten Salzes werden in 175 ml Wasser gelöst, zwei Tropfen Methylnrot (0,05 g in 75 ml 95%igem Alkohol gelöst und mit H_2O auf 100 ml verdünnt) zugegeben und mit 0,1 n Salzsäure bis zum ersten Farbwechsel nach orange gegen eine Vergleichslösung titriert. Nach Zusatz von 1,5 ml gesättigten Bromwassers wird 5 min gekocht, nach einer weiteren Minute 1 ml 90%ige Ameisensäure zugegeben, 1 min stehen gelassen und dann auf 10° bis 13° C abgekühlt. Man fügt nun 1 ml 85%ige Phosphorsäure (D 1,7) und etwa 0,1 g KJ hinzu, läßt genau 5 min im Dunkeln stehen, versetzt mit 1 ml frisch bereiteter 0,2%iger Stärkelösung und titriert mit 0,01 n $Na_2S_2O_3$ -Lösung, wobei man unter Umschwenken alle 4 sec einen Tropfen von etwa 0,015 ml zufließen läßt. Als Vergleichsflüssigkeit dient Wasser (190 ml in einem Erlenmeyer-Kolben). Die Genauigkeit beträgt + 0,05 bis — 0,15 mg KJ je kg Salz. Selbstverständlich müssen alle Reagentien jodfrei sein.

G. DENK.

Über die Auswertung von Lebensmittelanalysen diskutiert A. ZEISSET⁴. Verf. empfiehlt vor Ausführung der Analysen eine Sinnenprüfung. Zur einwandfreien Beurteilung sollte ferner eine kritische Analysenauswertung vorgenommen werden. Außerdem schlägt Verf. vor, zur Vereinheitlichung der Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln die entsprechenden Methoden (Schnellmethoden und exakte Methoden) sowie Richtlinien für die Beurteilung in einem Methodenbuch zusammen-

¹ Collect. czechoslov. chem. Commun. **19**, 605—608 (1954). Chem. Listy **47**, 461 (1953). Univ. Olmütz.

² Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **44**, 252—256 (1953). Kantonales Laboratorium Zürich.

³ Z. angew. Chem. **28**, I, 496 (1915); **29**, I, 342 (1916); s. auch diese Z. **66**, 161 (1925).

⁴ Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **50**, 211—213 (1954). Landes-Anst. Lebensm.-Arzneim.-gerichtl. Chem., Berlin.

zufassen, unter Berücksichtigung einer einheitlichen Entnahme, Lagerung und Konservierung der Proben. Zudem wird die Aufstellung von Vorschriften über die Verwendung beanstandeter Lebensmittel, wie sie z. B. in Österreich bestehen, als erforderlich erachtet.

DORIS HEILIGMANN.

Über eine erweiterte Auswertung chemischer Befunde der Lebensmittelüberwachung berichtet K. G. BERGNER¹. Verf. gibt eine Übersicht über die Zusammensetzung einiger Lebensmittel und wertet die Daten bzgl. der Beschaffenheit und der Qualität der Lebensmittel vom lebensmittelrechtlichen, wirtschaftlichen und ernährungsphysiologischen Standpunkt aus.

DORIS HEILIGMANN.

Über die Anwendung von Kaliumpermanganat als Reagens bei der Reinheitsprüfung von Essigsäure (Speise-Essig) diskutiert D. SCHENK². Verf. hält die Prüfung in saurem Medium als unzureichend und empfiehlt daher zur Erhöhung der Reduktionswirkung auf Kaliumpermanganat die Anwendung von Wärme oder ein Arbeiten in neutralem oder alkalischem Milieu.

DORIS HEILIGMANN.

Über die Bestimmung des Gesamtsäuregehaltes von Speiseeis durch Lumineszenz-Analyse unter Verwendung von *Lucigenin* als Indicator berichtet J. KOTTÁSZ³. Der Indicator strahlt im alkalischen Medium in Gegenwart von Wasserstoffperoxyd eine grüne Lumineszenz aus, während er in saurer Lösung nicht leuchtet⁴. Der Umschlagspunkt des Indicators liegt bei $pH = 9$, in Gegenwart von Alkohol bei pH 8,5. — *Ausführung.* 20 ml Speiseeis werden mit 50 bis 60 ml Wasser verdünnt, hierauf gibt man 5 ml 3%ige Wasserstoffperoxydlösung und 10 ml 96%igen Alkohol zu und schließlich 3 bis 4 ml einer 0,05%igen wäßrigen *Lucigenin*-Lösung. Anschließend wird im dunklen Raum mit 0,1 n Natronlauge titriert. Bei Fruchtseisen stimmen die Titrationsresultate innerhalb 0,03 bis 0,2% mit solchen, welche Phenolphthalein als Indicator benützen, überein. Kohlenhydrate, Fett und Eiweiß stören die Bestimmung nicht.

J. EISENBRAND.

Über vergleichende Untersuchungen an Kindernährmitteln, die in einer weiteren Gemeinschaftsarbeit von verschiedenen Laboratorien der Schweiz durchgeführt wurden, berichtet H. HADORN⁵. Dabei wurden die in einer früheren Arbeit⁶ veröffentlichten Methoden zur Untersuchung von diätetischen Nährmitteln auf ihre Anwendbarkeit zur Analyse von Kindernährmitteln geprüft. Zur Untersuchung kamen 3 Kindernährmittel von verschiedener Zusammensetzung. Im allgemeinen ergaben die meisten Methoden eine gute Übereinstimmung, größere Differenzen traten bei der Berechnung der fettfreien Milchtrockensubstanz auf Grund der Caseinbestimmung auf. Bei der Bestimmung von Lactose und Maltose mit biochemischen Methoden ergaben sich gut übereinstimmende Werte, wenn man mit höherer Einwaage (4 g) als bei Kraftnährmitteln arbeitet. Die Bestimmung der Saccharose nach der Zollinversionsmethode und die Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate nach der Methode von v. FELLEBERG ergaben keine Schwierigkeiten. Als Fehlerbreite der

¹ Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **50**, 245—248 (1954). Chem. Lds.-Unters.-Anst., Stuttgart.

² Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **50**, 276—278 (1954).

³ Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **100**, 54—56 (1955). Städt. Anstalt für Chemie u. Lebensmittelunters., Budapest.

⁴ Vgl. diese Z. **142**, 284 (1954); **145**, 36 (1955).

⁵ Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 402—411 (1954). Lab. VSK, Basel.

⁶ HADORN, H.: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters Hyg. (Bern) **44**, 348 (1953); vgl. diese Z. **145**, 116 (1955).

v. FULLENBERG Methode wird 1—2% angegeben. Die löslichen Proteine sind gesondert nach Kjeldahl zu bestimmen und vom Kohlenhydratwert in Abzug zu bringen. Bei der Bestimmung von Fett erwies sich die Aufschlußmethode mit Salzsäure als sehr geeignet, eine modifizierte GÖTTLICH-Rosa-Methode führte ebenso wenig wie direkte Extraktionsmethoden zum Ziel; die erstere lieferte 0,3—0,4% zu niedrige Werte, während mit der letzteren Methode nur ein Teil des tatsächlichen Fettgehaltes erfaßt werden kann. Aus dem Gesamtfettgehalt kann der Gehalt an MilCHFett mit Hilfe der Halbmikrobuttersäurezahl errechnet werden.

DORIS HEILIGMANN.

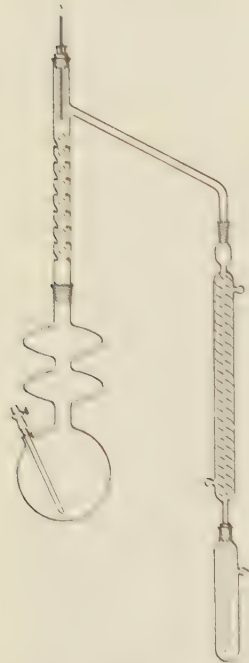


Abb. 1.
Apparat zur SO_2 -Bestimmung
in Lebensmitteln
nach PEXASSE und CHEFFEL.

Zur Bestimmung von geringen Mengen SO_2 in Lebensmitteln durch Destillation unter vermindertem Druck entwickelten J. PEXASSE und H. CHEFFEL¹ den in Abb. 1 wiedergegebenen Apparat, der ganz aus Pyrexglas hergestellt ist. Die beiden Erweiterungen auf dem Destillierkolben dienen zur Zerstörung von etwa gebildetem Schaum. Die Destillation erfolgt in phosphorsaurer Lösung, die SO_2 -Bestimmung im Destillat wird nach GRANT² durch Messung der mit Fuchsin-Schwefelsäure in Gegenwart von Formol erhaltenen Farbe durchgeführt.

DORIS HEILIGMANN.

Zum Nachweis von künstlichen Lebensmittelfarbstoffen empfiehlt J. EISENBRAND³ zunächst durch Gruppenreaktionen auf nicht zulässige Farbstoffe zu prüfen und anschließend die 18 zugelassenen Farbstoffe mit Hilfe von Verteilungsverfahren und spektralanalytisch zu identifizieren. Zur Prüfung auf unzulässige Farbstoffe wird bei der 1. Gruppenreaktion eine Ausschüttelung der mit 10%igem Ammoniak alkalisch gemachten Farbstofflösungen mit Amylalkohol (1:1) angewandt, bei der 2. Reaktion verfährt man so, daß man die mit Zinkstaub in salzsaurer Lösung reduzierte Farbstofflösung ammoniakalisch macht und mit Äther ausschüttelt.

Durch Beobachten der Fluorescenz und durch den Nachweis von evtl. in den Äther übergegangenen Spaltprodukten von Azofarbstoffen mit Natriumnitrit und alkalischer Naphtholösung wird auf unzulässige Farbstoffe geprüft. Zur Identifizierung der zugelassenen Farbstoffe modifiziert Verf. ein von K. BABER-WIXOM⁴ empfohlenes Verfahren, das auf einer fraktionierten Ausschüttelung einer amyalkohol-schwefelsauren Farbstofflösung mit verdünnter Schwefelsäure von verschiedener Konzentration und Bestimmung der Farbstoffe in den einzelnen Fraktionen durch Messung der Lichtabsorption im Elko-Photometer, oder auf der Anwendung von Verteilungsversuchen zwischen Amylalkohol und Wasser beruht. Zur Ausschüttelung wird hierzu ein graduierter zylindrischer Scheidetrichter empfohlen, anschließend wird die Lichtabsorption im Photometer gemessen. Ferner

¹ Ann. Falsificat. Fraudes 47, 345—346 (1954).

² Analyt. Chemistry 19, 345 (1947).

³ Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 50, 248—250, 283—290 (1954); Chem. Unters.-Amt f. d. Saarland, Saarbrücken.

⁴ The Analysis of Foods, London 1947, 2. Aufl.

werden noch verschiedene vereinfachte Verfahren zum Nachweis von Lebensmittel-farben und eine Möglichkeit der Trennung der Farbstoffe durch Anwendung des fraktionierten Ausschüttelverfahrens beschrieben. Eine Kombination dieser Untersuchungsverfahren mit dem chromatographischen Nachweis wird empfohlen.

DORIS HEILIGMANN.

Für die Bestimmung von DDT in Spritzrückständen an Obst empfiehlt W. FISCHER¹ die SCHECHTER-HALLER-Methode²; für HCH die Methode von M. S. SCHECHTER und I. HORNSTEIN³ in der Ausführungsform von H. ZEUMER und K. NEUHAUS⁴; für E 605 die Methode von P. R. AVERELL und M. V. NORRIS⁵ in der von H. ZEUMER und W. FISCHER⁶ beschriebenen Form. Als Abwaschmittel eignet sich bei DDT und HCH besonders Methylenchlorid. Diese Lösungen werden durch 7 cm hohe Säulen von Aluminiumoxyd (standardisiert nach BROCKMANN) geschickt. Verluste an Wirkstoff treten hierbei nicht auf. E 605 wird mit Chloroform abgewaschen und nach dem Verjagen des Chloroforms in Alkohol aufgenommen.

Nicht betriebsfähig waren Versuche zur Bestimmung der Rückstände der Halogen-Insektizide mit Hilfe des Gesamtklors. Oft treten hierbei hohe Blindwerte auf. Die an sich empfindliche nephelometrische Chlor-Ionenbestimmung ist infolge der störenden Beimengungen unzuverlässig.

W. FISCHER.

Zur Bestimmung von Diphenyl in Citrusfrüchten und Fruchtsäften verwenden W. F. NEWHALL, E. J. ELVIN und L. R. KNODEL⁷ eine Modifikation des früher beschriebenen ultrarotspektrographischen Verfahrens⁸. Danach werden die zerkleinerten Früchte in einem Flüssigflüssig-Extraktor (Abb. im Original) mit Wasser 2 Std lang am Rückfluß gekocht. Dabei scheidet sich im Extraktorteil eine Schicht von Orangenöl ab, in welcher das gleichzeitig übergehende Diphenyl vollständig angereichert wird. Bei der Untersuchung von Orangensaft setzt man vor der Destillation 1 ml d-Limonen zu. Nach vollendeter Destillation wird die Ölphase gemessen, mit Natriumsulfat getrocknet und in eine Küvette von 0,1–0,4 mm Schichtdicke gebracht. Aus dem Spektrum dieser Lösung wird der Diphenylgehalt durch Auswertung der Diphenylbande bei $14,34 \mu$ nach dem Grundlinienverfahren und durch Vergleich mit Eichkurven ermittelt. Die Eichkurven wurden mit Lösungen von Diphenyl in d-Limonen aufgestellt. Auf diese Weise können Diphenylgehalte von 0,08–0,8%, mit guter Genauigkeit bestimmt werden. H. SPECKER.

Zum Nachweis und zur Bestimmung von Acrolein in alkoholischen Flüssigkeiten benutzen L. ROSENTHALER und G. VICEZZI⁹ die Farbreaktionen mit Resorcin oder Hexylresorcin in Gegenwart von Trichloressigsäure und Quecksilberchlorid. Die vom Alkohol- und Acroleingehalt in gleicher Weise abhängigen Färbungen sind nicht beständig; sie erreichen einen Höhepunkt und blassen ab. In 80 Vol.-%igem Alkohol mit 1%-igem Acroleingehalt tritt die rotlila Färbung sofort auf und wechselt über Lilarot nach Braunrot. Mit 1 ml einer Verdünnung 1:100000 tritt noch eine

¹ Nachrichtenbl. dtsh. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) 6, 166–169 (1954).

Biol. Bundesanst., Inst. f. Pflanzenschutzmittelforschg., Berlin-Dahlem.

² Ind. Engng. Chem., anal. Edit. 17, 704 (1945); vgl. diese Z. 131, 323 (1950).

³ Analyt. Chemistry 24, 544 (1952); vgl. diese Z. 139, 307 (1953).

⁴ Chemiker-Ztg. 77, 105 (1953); vgl. diese Z. 141, 206 (1954).

⁵ Analyt. Chemistry 20, 753 (1948); vgl. diese Z. 133, 237 (1951).

⁶ Diese Z. 135, 401 (1952).

⁷ Analyt. Chemistry 26, 1234–1236 (1954). Citrus Exp. Station, Lake Alfred, Fla.

⁸ KNODEL, L. R., and E. J. ELVIN: Analyt. Chemistry 24, 1824 (1952); vgl. diese Z. 141, 122 (1954).

⁹ Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 99, 352–361 (1954). Eidg. Alkoholverw. Bern.

Farbreaktion auf, die bei Verwendung von Hexylresorcin noch bei der Verdünnung 1:10000000 beobachtet werden kann. Die Hexylresorcinfärbung ist in 80 Vol.-%igem Alkohol blaugrün und wechselt nach Lila und Purpur über (Einzelheiten im Original). — *Qualitativer Nachweis*. 2,5 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit 2 Tropfen 50%iger alkoholischer Resorcin- oder Hexylresorcinlösung, 5 Tropfen 1%iger alkoholischer Quecksilberchloridlösung und 2,5 ml gesättigter Trichloroessigsäure versetzt. — *Zur quantitativen Bestimmung* muß der Alkoholgehalt der zu untersuchenden Lösung auf 40 oder 80 Vol.-% eingestellt werden. Man bestimmt zunächst den Gehalt an Gesamtaldehyden in 10 ml der Lösung mit 1 ml m-Phenylendiaminlösung¹ und anschließend den Acroleingehalt mit Hexylresorcin. Von dem mit m-Phenylendiamin erhaltenen Wert muß man den dem Acrolein zukommenden abziehen (Tab. im Original), um den Aldehydwert zu erhalten. Der Acroleingehalt soll nicht über 0,025%₀₀ betragen. Gegebenenfalls ist eine zweite Bestimmung nach entsprechender Verdünnung auszuführen. J. KOCH.

Die flammenphotometrische Bestimmung von Na, K, Mg und Ca in Weinen wird von M. J. PRO und A. P. MATHERS² mit einem BECKMAN-Spektralphotometer, Modell DU mit Flammenphotometerzusatz, unter Verwendung einer Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme, eines Elektronenvervielfachers und einer rotempfindlichen Photozelle (für K) vorgenommen. Verf. berücksichtigen bei den sonst nach den üblichen Gesichtspunkten ausgeführten Bestimmungen die Schwankungen des Flammenuntergrundes in folgender Weise: Beiderseits der Linie des jeweils zu bestimmenden Elementes wird je eine Messung der Flammenemission durchgeführt und das arithmetische Mittel dieser Werte als Flammenuntergrund in Rechnung gestellt. — Die Untersuchung des Einflusses von 29 Metallen auf die Bestimmung von 10 bzw. 50 mg/l Na, K, Mg und Ca ergibt, daß 100 mg l Li in allen Fällen einen beträchtlichen Störeinfluß ausüben. Die anderen Metalle beeinflussen nur die Mg- und Ca-Emission in merklichem Ausmaße. Bis zu 5 g l Acetat, Bicarbonat, Chlorid, Nitrat und Sulfat stören die Na- und K-Bestimmung nicht. Mehr als 500 mg/l Phosphat schwächen die K-Emission, stören aber die Na-Emission nicht. Außer Chlorid und Nitrat schwächen alle Anionen die Mg- und Ca-Emission in beträchtlichem Ausmaße. Durch Zusatz von 1% Dextrose kann jedoch der Einfluß von Phosphat auf die Mg- und Ca-Emission teilweise kompensiert werden. — Die Arbeit enthält ausführliche Angaben über die Herstellung der Analysen- und Eichlösungen. Die chemisch bestimmten Mg- und Ca-Werte stimmen mit den flammenphotometrisch ermittelten gut überein; die Zuverlässigkeit der Alkalibestimmungen wird durch das Wiederfinden gemessener Zusätze von Na und K bestätigt. H. ZETTLER.

Zur Bestimmung kleiner Eisenmengen in Wein und Fruchtsäften benutzen L. DEIBNER und H. BOUZIGUES³ eine Modifikation der colorimetrischen Methode von B. BENCZE⁴. — In einem 100 ml-Kjeldahl-Kolben werden auf dem Sandbad 20 ml Wein (bis 50 g/l Zucker enthaltend) mit 10 ml 30%igem Wasserstoffperoxyd vorsichtig auf 2–3 ml eingengt. Nach dem Abkühlen gibt man tropfenweise unter Wasserkühlung 3–4 ml Ammoniumhydroxydlösung (D 0,9) zu und löst den entstandenen Niederschlag vorsichtig mit n-Salzsäure. Schließlich füllt man in einem Meßkolben auf 50 oder 100 ml auf. Zu je 20 ml dieser Lösung (Doppelversuch!)

¹ Vergleichslösungen! Siehe auch Schweiz. Lebensmittelbuch 4. Aufl., S. 322.

² J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 945–960 (1954). Internal Revenue Service, Washington, D. C. (USA).

³ Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 501–508. Stat. Centr. Rech. sur l'Oenologie etc. de Narbonne und Inst. Natio. Rech. Agronom., Paris.

⁴ Diese Z. **128**, 179 (1948).

gibt man 2 ml 2,5%ige Hydrochinonlösung (im Liter 10 ml H_2SO_4 enthaltend), 2 ml 20%ige Natriumsulfatlösung und 1 ml o-Phenanthrolinlösung. Nach 15 min langem Stehen werden 10 ml einer 20%igen Ammoniumacetatlösung zugefügt, mit destilliertem Wasser wird dann auf 50 ml aufgefüllt und colorimetriert. (Blaugrünes Filter, Schwerpunkt 485 m μ .) Für jede Messung ist ein Blindversuch auszuführen. In einem Versuchsansatz lassen sich 5–25 μg Fe bestimmen. J. KOCH.

Über die Inversionsgeschwindigkeit bei Rohrzuckerzusatz in Wein berichtet P. BÖHRINGER¹. Zu 3 verschiedenen Weinen wurden Rohrzuckermengen zwischen 10 und 20 g/l zugesetzt und die Abnahme des Saccharosegehaltes verfolgt. Es ergab sich, daß Rohrzucker nach einer gewissen Zeit nicht mehr nachgewiesen werden kann, und zwar ist bei einem Zusatz von 10 g/l bei Lagertemperaturen zwischen 0–3° C bis zu 31 Std, bei 10–13° C bis zu 17 Std und bei 17–20° C bis zu 5 Std ein Nachweis möglich. Bei einem Zusatz von 20 g/l ergab sich eine Nachweismöglichkeit bis zu 69 Std bei einer Lagertemperatur von 0–3° C, bei 10–13° C bis zu 55 Std und bei 17–20° C bis zu 26 Std. DORIS HEILIGMANN.

Der Nachweis von Zimtaldehyd in Dessertweinen und weinhaltigen Getränken wird von H. GROHMANN und F. H. MÜHLBERGER² papierchromatographisch geführt. Bei Benutzung von Benzin als Lösungsmittel gelingt es ihnen, noch 0,2 mg/l Zimtaldehyd nachzuweisen. Oxydationsverluste sind zwar besonders in wasserdampfgesättigter Atmosphäre möglich, doch ist der Nachweis wesentlich empfindlicher als die organoleptische Prüfung, denn die Sinnesorgane vermögen erst bei 5 mg/l Zimtaldehyd anzusprechen. — *Arbeitsweise*. 50 ml des zu untersuchenden Weines werden mit 5 ml 25%iger Phosphorsäure angesäuert, nachdem die Weinprobe vorher auf 20 Vol.-% Alkohol verstärkt wurde. Mit 50 ml Pentan schüttelt man den Zimtaldehyd aus (15 min schütteln!) und verdunstet das Pentan bei 30° C. (Vorsicht! Verluste von Zimtaldehyd!) Der Rückstand wird in 1 ml absolutem Alkohol gelöst und aufsteigend chromatographiert (Papier Schleicher und Schüll 2043 b). Als Entwickler dient mit Wasser gesättigtes Benzin (KP 110–140° C oder 120–180° C), der R_f -Wert beträgt 0,82, die Entwicklungszeit 60–80 min. Das Papier wird mit salzsaurer Hydrazinlösung (s. unten) besprüht und das Chromatogramm spätestens nach 30 min im UV-Licht begutachtet. Bei Zusatz von 10% Zinn(II)-chlorid zur Hydrazinlösung entstehen intensive, ins Orange gehende Flecken, die sich auch bei Tageslicht auswerten lassen. Zur Sicherung des Nachweises besprüht man ein zweites Chromatogramm mit Benzidinreagens. — *Reagentien*. *Hydrazinreagens*. 10 ml 25%ige Salzsäure + 90 ml gesätt. wäßrige Hydrazinsulfatlösung. *Hydrazin-Zinn(II)-chloridreagens*. 10 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ + 10 ml 25%ige Salzsäure, aufgefüllt auf 100 ml mit gesätt. wäßriger Hydrazinsulfatlösung. *Benzidinreagens*. 0,5 g Benzidin + 20 ml Eisessig + 80 ml 96%iger Alkohol. J. KOCH.

Zu den verschiedenen Methoden zum Nachweis der künstlichen Farbstoffe in Wein nehmen E. PORTAL und J. BONASTRE³ kritisch Stellung. Sie lehnen die seit 1907 in Frankreich offiziell bekannten Methoden (Ausschütteln mit Amylalkohol, Behandeln mit 10⁰/₀iger Quecksilberacetatlösung und Magnesia und Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure, sowie eine einfache Wollfaden-Färbe-Methode ohne

¹ Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 367–369 (1954). Lds.-Lehr- u. Forsch.-anst. Wein- u. Gartenbau, Neustadt/Weinstr.

² Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 361–367 (1954). Pfälz. Land. Versuchstation u. Chem. Untersuchungsanstalt, Speyer.

³ Ann. Falsificat. Fraudes **47**, 341–345 (1954). Station Agronomique et Oenologique de Bordeaux.

Umfärben) ab. Gute Erfolge lassen sich nach ihrer Angabe mit der Wollfaden-Methode ARATA in der Ausführung von VILLAVECCHIA¹ erzielen. — *Ausführung.* 200 ml Wein werden in einem 500 ml-Erlenmeyer auf $\frac{1}{3}$ des Volumens eingengt, mit 3 ml verdünnter Salzsäurelösung (1+10) und 0,5 g entfetteter weißer Wolle 5 min zum Sieden erhitzt. Die Wolle ist dann unter fließendem Wasser auszuwaschen und in dem gleichen Erlenmeyer mit 100 ml Wasser und 2 ml der Salzsäurelösung 5 min auszukochen. Man dekantiert und wiederholt die Behandlung bis die Flüssigkeit farblos ist. Die Wolle wird salzsäurefrei gewaschen und im Erlenmeyer mit 50 ml destilliertem Wasser und 10 Tropfen Ammoniak (D 0,910) 10 min gekocht, um den etwa vorhandenen künstlichen Farbstoff in Lösung zu bringen. Nach dem Verdünnen der Lösung auf 100 ml entfernt man das Ammoniak durch weiteres Kochen und säuert hierauf mit 2 ml der Salzsäurelösung an. Die salzsaure Farbstofflösung wird nun mit 0,06 g weißem, entfettetem Wollfaden 5 min zum Sieden erhitzt. Bei Anwesenheit von künstlichen Farbstoffen ist der Wollfaden rot oder gelb gefärbt (Auswaschen unter fließendem Wasser!). Bei schwacher Färbung wird die Ammoniakbehandlung wiederholt und die Umfärbung mit 0,03 g Wolle vorgenommen. Eine Rosafärbung weist auf saure Teerfarbstoffe hin. Mit Hilfe der Papierchromatographie kann der Farbstoff nach G. SÉRIS² identifiziert werden, wenn man ihn mit ammoniakalischer Lösung von der Wollfaser löst, zur Trockne bringt und in wenig Alkohol aufnimmt. J. KOCH.

Zum Nachweis von Antiseptica und Antibiotica im Flaschenbier veröffentlicht D. A. A. MOSSEL³ eine mikrobiologische Methode. — *Arbeitsweise.* Zu 100 ml Bier werden in einem 250 ml-Erlenmeyer-Kolben 5 ml einer keimfreien 50%igen Glucoselösung und, um Fehlermöglichkeiten bei stickstoff- oder vitamin B-armem Bier auszuschalten, 10 ml einer Nährlösung nach L. J. WICKERHAM⁴ zugegeben. Als Impfmateriel dient frische Bäckerhefe, von der man 6 verdünnte Lösungen herstellt (1:10 mit Zusatz von 0,85% iger Kochsalzlösung). Die Konzentration der letzten Verdünnung sollte 10^4 Zellen/ml betragen. (Bäckerhefe enthält durchschnittlich 10^{10} Zellen/g.) Man setzt 1 ml dieser Lösung unter Schütteln zum Bier zu und gibt sofort in 2 Röhren nach EINHORN. Nach 68—72stündigem Stehen bei 25° C wird das Gasvolumen in der Röhre gemessen. Als Grenzwert gibt Verf. die Menge an, die die Gasbildung um weniger als 50% der normalen Gasentwicklung verringert. Der normale Hopfengehalt des Bieres stört den Nachweis nicht. Die Empfindlichkeit des Verfahrens soll für die in der Praxis verwendeten Mengen ausreichend sein.

DORIS HELBIGMANN.

Zur Bestimmung der organischen Säuren in Konfitüren empfiehlt R.-I. CHEFTEL⁵ die Anwendung einer früher veröffentlichten papierchromatographischen Mikromethode⁶. Das Verhältnis der verschiedenen Säuren soll einen Anhaltspunkt zur Beurteilung der Verfälschung von Konfitüren geben. Zur Untersuchung kamen Erdbeer- und Aprikosenkonfitüre, die mit 20 bzw. 30% des Fruchtanteils mit Apfelmarmelade versetzt wurde. Die Ausbildung der von Äpfelsäure und Citronensäure erhaltenen Chromatogrammstellen erlaubt allerdings keine einwandfreie Begutachtung der Verfälschung. Zur Chromatographie wurde die durch einen Ionenaustau-

¹ *Traité de chimie analytique appliquée*, Masson, Paris 1919.

² *Ann. Falsificat. Fraudes* 45, 110 (1952); vgl. diese Z. 137, 447 (1952/53).

³ *Ann. Falsificat. Fraudes* 47, 349—357 (1954). Inst. Central de la Nutrition T.N.O. d'Utrecht (Niederlande).

⁴ U.S. Dep. Agric. Techn. Bull. 1029, 7 (1951).

⁵ *Ann. Falsificat. Fraudes* 47, 281—284 (1954).

⁶ CHEFTEL, R.-I., R. MUNIER und M. MACHEBOEUF, *Bull. Soc. Chim. biol.* 33, 840 (1951); vgl. diese Z. 137, 117 (1952/53).

seher (Permutit) gereinigte alkoholische Extraktlösung verwendet. Als Lösungsmittel diente ein Gemisch von n-Propanol—Eucalyptol—96-98% iger Ameisensäure (50:50:20), das mit Wasser bis zur Sättigung versetzt wurde.

DORIS HEILIGMANN.

Über die Analytik und die Bewertung der Pektinstoffe berichten K. TÄUFEL und G. FELDMANN¹. Verf. erörtern zunächst die Theorie der Gelbildung und der Alterung von Pektinlösungen. Ferner werden sowohl physikalische als auch chemische Prüfverfahren zur Beurteilung des Gelbildungsvermögens diskutiert. Geeignet zur Feststellung der Zähigkeit scheint die Methode nach H. LÜERS² zu sein, ferner die Untersuchung im Rheoviskometer nach F. HÖPPLER³. Bei der Bestimmung des Reinpektingehalts wird zur Entfernung von störenden Stoffen wie Zucker, Gerb- und Farbstoffen sowie organischen Säuren eine Behandlung des Analysenmaterials mit 60% igem Alkohol empfohlen. Von Einfluß auf die Gelierfähigkeit sind außerdem der Veresterungsgrad und der Gehalt an Acetylgruppen. So werden Methoden zur Bestimmung der freien und veresterten Carboxylgruppen angegeben und Literaturangaben über Verfahren zur Bestimmung des Gehalts an Acetylgruppen veröffentlicht.

DORIS HEILIGMANN.

Ein Schnellverfahren zur volumetrischen Bestimmung von Pektin als Calciumpektinat entwickelt R. HOLT⁴. In einen 500 ml-Erlenmeyer-Kolben werden bis zu 200 ml (genau gemessen) der Analysenlösung, die 30—120 mg Pektin enthalten soll, gebracht und mit $\frac{1}{4}$ ihres Volumens an 0,5 n Natronlauge unter Umschwenken versetzt. Nach 5 min werden 50 ml n Essigsäure zugegeben, gemischt, mit Wasser auf 350 ml aufgefüllt und wieder gemischt. Dann werden in langsamem Strahle 50 ml m Calciumchloridlösung unter lebhaftem Umschwenken zugefügt und 10 min beiseite gestellt. Nachdem der Inhalt des Kolbens 2 min aufgeköcht wurde, gibt man ihn durch ein Whatman Nr. 541-Filter von 15 cm Durchmesser, wäscht Kolben und Filterinhalt 2mal mit siedendem Wasser, bringt den Filtrerrückstand in den Kolben zurück und kocht ihn 10 min mit 200—300 ml Wasser auf, während in der Zwischenzeit das Filter weiter ausgewaschen wird. Nun wird der Kolbeninhalt durch das gleiche Filter gegeben und dieses mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der Chloridreaktion gewaschen. Der Filtrerrückstand wird wieder mit etwa 150 ml heißem Wasser in den Kolben zurückgebracht. Dann werden 10 ml einer Pufferlösung aus 40 g Borax, 10 g Natriumhydroxyd und 5 g Natriumsulfid, in destilliertem Wasser zu 1 l ergänzt, zugefügt, eine gemessene, überschüssige Menge einer Komplexlösung (4 g des Dinatriumsalzes von Äthylendiamintetraessigsäure in 43 ml 0,5 n Natronlauge, mit destilliertem Wasser auf 1 l aufgefüllt) zugegeben und der gut verschlossene Kolben bis zur Lösung des Niederschlages geschüttelt. Nach dem Abkühlen setzt man 3—4 Tropfen Indicatorlösung (in der Mischung von 1 ml n Natriumcarbonatlösung mit 30 ml destilliertem Wasser wird 1 g Eriochromschwarz T gelöst, die Lösung wird mit Isopropanol auf 100 ml ergänzt) zu und titriert mit einer Standard-Calciumlösung (0,5 g reines CaCO_3 + 2,5 ml 1 : 1 verdünnte Salzsäure im Liter) den Komplexon-Überschuß zurück. Für die Berechnung der Analysenergebnisse ist zu berücksichtigen, daß, obwohl der theoretische Ca-Gehalt des Calciumpektinates 10,2% beträgt, in der Praxis nur etwa 7,6% gefunden werden. 1 mg CaCO_3 ist also 5,3 mg Calciumpektinat äquivalent. Für Vergleichszwecke empfiehlt es sich, die Resultate als mg CaCO_3 /g Untersuchungsmaterial zu registrieren. Die Bestimmung ist in 2 Std durchführbar.

K. SÖLLNER.

¹ Chem. Techn. 6, 525—528 (1954). Inst. Ernähr.-forsch., Potsdam-Rehbrücke.

² Kolloid-Z. 42, 154 (1927).

³ Chem. Techn. 6, 129 (1954).

⁴ Analyst (London) 79, 623—627 (1954). The fruit and Vegetable Canning and Quick Freezing Res. Assoc., Chipping Campden, Glos. (England).

Über die Bestimmung von Wasser in Getreidekörnern berichten F. S. WARREN und F. DIMMOCK¹. Verf. stellten vergleichende Versuche mit verschiedenen Verfahren an. Zur Untersuchung kamen 122 Proben jeweils zur Erntezeit in den Jahren 1949—1952. Als Vergleichsmethoden dienten die Öldestillationsmethode nach BROWN-DUVEL, die von COLEMAN und BOERNER² modifiziert wurde (100 g Getreide werden in 150 ml Leichtöl bis zu 195° C innerhalb 20 min erhitzt), ferner eine elektrische Methode, die auf der Messung der Dielektrizitätskonstanten beruht, und schließlich die übliche Trocknungsmethode, die über 96 Std bei 100° C ausgeführt wurde. Die elektrische Methode zeigte verglichen mit der Methode nach BROWN-DUVEL eine durchschnittliche Abweichung von 0,83—2,52%, während die Trocknungsmethode 1,67—3,17% von der BROWN-DUVEL-Methode abwich. Als Schnellmethode am besten geeignet erwies sich die elektrische Methode, die auch für praktische Zwecke eine ausreichende Genauigkeit ergab. DORIS HEILIGMANN.

Zum Nachweis von pflanzlichen Fetten und Ölen mit Hilfe der Phytosterinacetatprobe ändern H. HADORN und R. JUNGKUNZ³ die im Schweizer Lebensmittelbuch angegebene Arbeitsweise insofern ab, als sie die Fällung der Sterindigitonide aus dem Unverseifbaren durchführen und die Sterinacetate aus Essigsäureanhydrid und nicht aus Alkohol kristallisieren. Ein Umkristallisieren der Acetate erübrigt sich. — *Arbeitsweise*: 20 g Öl oder Fett werden nach Zusatz von 5 g KOH-Plättchen und 40 ml 90% igem Alkohol in einem 250 ml Stehkolben 1 Std am Rückflußkühler erhitzt; die schwach abgekühlte Seifenlösung wird in einem Scheidetrichter nach Zusatz von 120 ml dest. Wasser mit 200 ml Äthyläther (1 min langes Schütteln) und dann noch 2 mal mit jeweils 150 ml Äthyläther (20—30 sec langes Schütteln) ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden dann 3 mal mit je 20 ml dest. Wasser alkalifrei gewaschen (Kontrolle mit Phenolphthalein); der auf wenige Milliliter abdestillierte Extrakt wird zur Entfernung der Feuchtigkeit mit 6 ml Aceton auf dem Wasserbad erhitzt. Zur Fällung erwärmt man das Unverseifbare nach Zusatz von 10 ml Aceton bis zum beginnenden Sieden, gibt 10 ml 1% iger Digitoninlösung in 80% igem Alkohol zu und dampft auf dem Wasserbad zur Trockne ein. Zur Lösung des restlichen Digitonins versetzt man den Niederschlag mit 50 ml heißem Wasser und kocht 2—3 min lang unter Rühren. Zur Erleichterung des Filtrierens (Schwarzband Sch. und Sch., 9 cm) wird die auf 60° C abgekühlte Lösung mit 25 ml Aceton versetzt und nochmals bis zum beginnenden Sieden erwärmt. Der abfiltrierte Niederschlag wird nacheinander mit 10 ml Aceton, 5 ml Äther, 5 ml Chloroform und 10 ml Äther ausgewaschen, gegen Ende unter Absaugen. Nach dem Trocknen im Trockenschrank wird der Niederschlag in einem mit einem Uhrglas bedeckten Becherglas mit 3 ml Essigsäureanhydrid 10 min lang gekocht; die Lösung wird sogleich durch einen Wattebausch in ein 15 ml-Reagensglas abfiltriert, auf Zimmertemperatur abgekühlt und anschließend noch 10 min im Eisschrank belassen. Die auskristallisierten Sterinacetate werden abgenutscht, mit wenig eiskaltem 90% igem Alkohol gewaschen und auf dem Filter im Trockenschrank getrocknet, worauf man den Schmelzpunkt bestimmt. Der Nachweis von Pflanzenfett gilt als erwiesen, wenn der korre Schmelzpunkt bei 117° C oder höher liegt. DORIS HEILIGMANN.

¹ Canad. J. Agricult. Sci. **34**, 435—443 (1954). Canada Dept. of Agricult.

² U.S.D.A. Bull. 1375 (1936).

³ Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 389—396 (1954). Lab. VSK, Basel.